

# Bioquímica y Patología Clínica

Revista de la Asociación  
Bioquímica Argentina

**Albert Lester Lehninger (1917-1986)** Fue un bioquímico estadounidense que dedicó más de treinta años al estudio bioquímico de las mitocondrias, siendo considerado el padre de la bioenergética. En 1951, había demostrado la fosforilación oxidativa en las mitocondrias con la producción de ATP, y la biosíntesis de moléculas ricas en hidrógeno como son los ácidos grasos y el colesterol. Hizo contribuciones fundamentales a la comprensión actual del metabolismo a nivel molecular. En 1948 descubrió, junto con Eugene P. Kennedy, que las mitocondrias son el sitio de fosforilación oxidativa en las células eucariotas, esto marcó el comienzo del estudio moderno de la transducción de energía. Es autor de varios textos clásicos, entre ellos: Principios de Bioquímica, utilizado para los cursos de introducción a la bioquímica en las muchas universidades del mundo, traducido a doce idiomas, y con más de 600.000 ejemplares vendidos. Su memoria se honra a través de las Conferencias Albert Lester Lehninger Memorial en la Universidad Johns Hopkins.

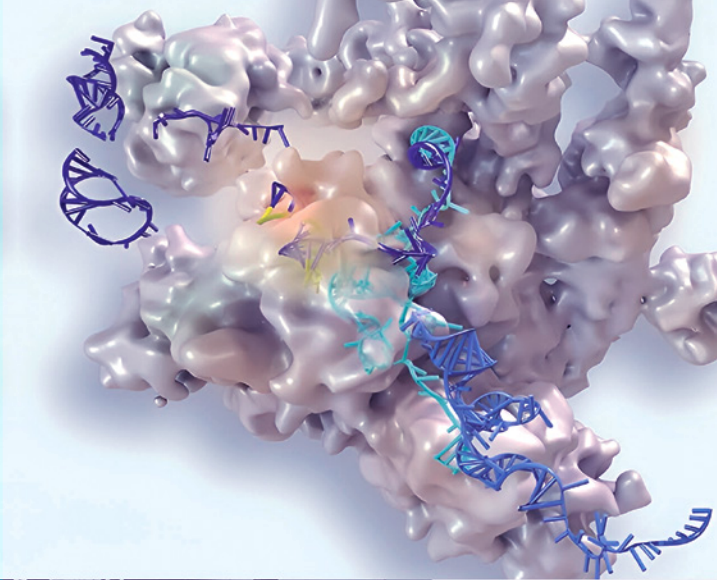


## EDITORIAL

- Pág. 13 **Laboratorios sin látex: un requisito para cuidar a toda la comunidad.**  
*Latex-free laboratories: a requirement to care for the entire community.*  
Magariños, José.

## ARTÍCULOS ORIGINALES

- Pág. 14 **Evaluación de test rápido, análisis de parámetros de laboratorio y serotipos circulantes en pacientes con diagnóstico confirmado de dengue durante marzo - abril del 2023 en zonas de CABA y Gran Buenos Aires.**  
*Evaluation of rapid test, analysis of laboratory parameters and circulating serotypes in patients with a confirmed diagnosis of dengue during March-April 2023 in areas of Buenos Aires city and Greater Buenos Aires.*  
Gómez, Alejandra Gabriela; López, Yanina; Soler, Jazmín; Losada, Graciela; Rabellini, Sofía; Tajés-Nuñez, Eugenia; Mogollón-Molina, Natalia; Ronanduan, Paula; Dócimo, Agustina; Oviedo, Florencia.
- Pág. 19 **Ferroptosis, un mecanismo de muerte celular presente en  $\beta$ -talasemia menor.**  
*Ferroptosis, a cell death mechanism present in  $\beta$ -thalassemia minor.*  
Terán, Magdalena María; Mónaco, María Eugenia; Haro, Cecilia; Ledesma Achem, Miryam Emilse; Alvarez Asensio, Natalia Sofía; Agüero Aguilera, Ana Carolina; Lazarte, Sandra Stella; Issé, Blanca Alicia.
- Pág. 27 **Estrategia de comparación de métodos para la determinación de ionograma sérico basado en un sistema documental.**  
*Strategy to compare methods for the determination of serum ionogram based on a documentary system.*  
Labanti Mauricio; Peralta Silvia; Collino Cesar Juan Gerardo.
- Pág. 33 **Evaluación de estrategias para la gestión de calidad en laboratorios clínicos: análisis de modo y efecto de fallo e indicador Budget Error.**  
*Assessment of Quality Management Strategies in Clinical Laboratories: Analysis of Failure Mode and Effect and the 'Budget Error' Indicator.*  
Gimenez, José María; Bonetto, Ayelén; Abiega, Claudio; Lujan, Pablo Rodrigo
- Pág. 44 **Análisis del genoma completo de las cepas emergentes de rotavirus G9P[4] y G8P[8] en Argentina: nueva introducción vs. reordenante de cepas locales.**  
*Complete genome analysis of emergent G9P[4] and G8P[8] rotavirus strains in Argentina: novel introduction vs. re-assortment of local strains.*  
Martelli, Antonella; Marchetti, Paulina; Eibar, Vanina Sol; Stupka, Juan Andrés; Degiuseppe, Juan Ignacio.
- Pág. 60 **Verificación e implementación de los métodos de  $\beta$ -hidroxibutirato y ácidos grasos libres no esterificados en un equipo automatizado.**  
*Verification and implementation of the  $\beta$ -hydroxybutyrate and non-esterified free fatty acid methods in automated equipment.*  
Bariandarán, Aldana; Chillemi, Carla; Barbieri, Alejandra; Piñeiro, Natalia; Gosis, Ramiro; Rodiño, Alejandra; Fernandez, Gabriela; D'Isa, Gabriela.
- Pág. 66 **Antígeno prostático específico para el diagnóstico de hiperplasia prostática benigna en pacientes con síntomas de infección del tracto urinario a repetición.**  
*Prostate-specific antigen for the diagnosis of benign prostatic hyperplasia in patients with symptoms of recurrent urinary tract infection.*  
Luizaga Gómez, Gabriela Telma.
- Pág. 66 **Estado actual de las pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia del paciente. Rol del bioquímico.**  
*Current state of the point of care Laboratory testing: role of the biochemist.*  
D'Isa, Gabriela; Quattrocchi, Gabriela; López, María Alejandra; Castro, Marcela; Rodríguez, Fabián.



## TAPA

**Albert Lester Lehninger (1917-1986)**  
*El padre de la bioenergética*

Fue un bioquímico estadounidense, ampliamente considerado como un pionero en el campo de la bioenergética. Nació en Bridgeport, Connecticut, Estados Unidos, el 17 de febrero de 1917.

Durante los años 1935 a 1939 asistió a la Universidad Wesleyan. Su maestro, Ross Fortner Jr., le despertó el interés por la bioquímica al abordar las contribuciones de los alemanes Otto Warburg (Premio Nobel en 1931) y Hans Krebs (Premio Nobel en 1953) sobre el metabolismo celular.

Lehninger se recibió de licenciado en inglés en la Universidad de Wesleyan en el año 1939, luego realizó su Maestría en Ciencias en 1940 y se doctoró en bioquímica en 1942 en la Universidad de Madison, Wisconsin, bajo la dirección de Edgar J. Witzemann. Realizó su tesis doctoral sobre el metabolismo de las grasas.

En el año 1945, fue contratado como profesor asistente de bioquímica y cirugía en la Universidad de Chicago, en la que permanecería seis años. Además, se desempeñó en diversos cargos docentes en la Universidad de Madison.

Albert L. Lehninger dedicó más de treinta años al estudio bioquímico de las mitocondrias, siendo considerado el padre de la bioenergética. En 1951, había demostrado la fosforilación oxidativa en las mitocondrias con la producción de ATP, y la biosíntesis de moléculas ricas en hidrógeno como son los ácidos grasos y el colesterol.

En 1952 fue designado como director del Departamento de Química Fisiológica de la Facultad de Medicina de la pres-

tigiosa Universidad Johns Hopkins. Se desempeñó en esta posición hasta 1978 y luego fue designado como profesor de la Universidad de Ciencias Médicas. Este cargo fue creado específicamente para Lehninger, para honrar su servicio a la Universidad Johns Hopkins, por sus esfuerzos científicos pioneros y su dedicación a sus estudiantes. Ocupó este título hasta su muerte.

Hizo contribuciones fundamentales a la comprensión actual del metabolismo a nivel molecular. En 1948, descubrió, junto con Eugene P. Kennedy, que las mitocondrias son el sitio de fosforilación oxidativa en las células eucariotas. Esto marcó el comienzo del estudio moderno de la transducción de energía. Es autor de varios textos clásicos, entre ellos: Mitocondria, Bioenergética, Bioquímica y en particular, Principios de Bioquímica un texto de referencia ampliamente utilizado para los cursos de introducción a la bioquímica en las universidades.

De este tratado de bioquímica de 1970, que fue traducido a doce idiomas, llegaron a venderse 600.000 ejemplares. A lo largo de su trayectoria recibió numerosos premios y reconocimientos. Falleció el 4 de marzo de 1986 a la edad de 69 años, debido a complicaciones graves del asma. Póstumamente, su memoria se honra a través de Las Conferencias Albert Lester Lehninger Memorial en la Universidad Johns Hopkins.

Su mejor legado fue, la escuela de bioquímicos que formó, y especialmente, sus discípulos Eugene Patrick Kennedy (1919-2011) y Morris Enton Friedkin (1918-2002).

## COMISIÓN DE LA REVISTA

### DIRECTOR

#### Dr. Fernando D. Brites

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

### SECRETARIA CIENTÍFICA

#### Dra. Fabrina Capece

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

### COMITÉ EDITORIAL

#### Dr. Orlando Gabriel Carballo

- Laboratorio Rossi.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina
- Universidades del Hospital Italiano de Buenos Aires.  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. 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, Argentina.
- Medicina, Universidad Nacional de la Matanza.  
Provincia de Buenos Aires, Argentina.

#### Dr. Julián Verona

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

### CORRECCIÓN DE ESTILO

Lic. Débora Schmer Miranda (Español)

Lic. María Victoria González Eusevi (Inglés)

### SECRETARIOS ADMINISTRATIVOS

Sr. Gastón Goldberg

Sr. Jorge Signorelli

### ASESORES\*

\*Las personas integrantes de este cuerpo no forman parte del Comité Editor y por lo tanto no participan en las decisiones editoriales respecto a la aceptación o rechazo de publicación de artículos presentados a la revista. No obstante, eventualmente son consultados por los editores respecto a temas específicos de su campo disciplinar de conocimiento.

**Aresio Plaza Lopez.** Hospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, España.

**Carlos Alberto von Mühlen.** Hospital Molinos de Viento, Porto Alegre, Brasil.

**Carlos Calvo Monfil.** Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

**Dora Ruchanzky.** Universidad de la República del Uruguay, Uruguay.

**Fernando Antúnez.** Hospital Maciel, Administración de Servicios de Salud del Estado, Montevideo, Uruguay.

**Ignacio García de la Torre.** Hospital General de Occidente y Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.

**Luis García de Guadiana Romualdo.** Hospital Universitario Santa Lucía, Cartagena, España.

**María Montserrat Blanes González.** Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

**Pablo Daniel Lapunzina Badi.** Hospital Universitario La Paz, Madrid, España.

**Adriana Factorovich.** Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alejandra Scaziotta.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alejandra Ginaca.** Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alberto Lazarowski.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alberto Villagra.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alicia Arechabala.** Hospital Francisco J. Muñiz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Alicia Blanco.** Academia Nacional de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Angela Famiglietti.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Belén Bouzas.** Hospital Francisco J. Muñiz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Carlos Vay.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Cesar Collino.** Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

**Claudia Ayuso.** Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Claudia Menghi.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Daniel Bustos.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Eduardo Mormandi.** Hospital Carlos Durand, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Fernando Goldbaum.** Instituto Leloir, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Gabriel Migliarino.** Universidad de Morón, Morón, Argentina.

**Gabriela Mendeluk.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Gabriela Santiso.** Hospital Francisco J. Muñiz, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Gloria Cerrone.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Graciela Ponce.** Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

**Graciela Ramos.** Hospital Carlos G Durand, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Jorge Quarleri.** Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina.

**Jorge Rey.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**José Margariños.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Laura Boero.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Leticia Madalena.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Luis Cuniberti.** Universidad Favaloro, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**María José Rial.** Hospital de Niños Pedro de Elizalde, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**María Laura D' Ambrosio.** Hospital Interzonal General de Agudos Evita de Lanús, Lanús, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

**Marta Martinuzzi.** Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Monica Aixalá.** Academia Nacional de Medicina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Nestor Litwin.** Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina.

**Nilda Fink.** Fundación Bioquímica Argentina, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Nora Slobodianik.** Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Patricia Otero.** Hospital Carlos Durand, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Patricia Sorroche.** Instituto Universitario, Hospital Italiano de Buenos Aires, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Sara Kauffman.** Hospital General de Agudos Dr. Juan A. Fernández, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Silvia González.** Hospital de Rehabilitación Respiratoria María Ferrer, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Stella Carchio.** Hospital Prof. Juan P. Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Viviana Osta.** Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**ASOCIACIÓN BIOQUÍMICA ARGENTINA**

Fundada el 3 de septiembre de 1934

**COMISIÓN DIRECTIVA**

**PRESIDENTE**

**Dra. Silvia B. González**

**VICEPRESIDENTE**

**Dra. Patricia Otero**

**SECRETARIA**

**Dra. Viviana Osta**

**TESORERA**

**Dra. Isabel Desimone**

**VOCALES**

**1° Vocal Titular**

**Dra. María José Rial**

**2° Vocal Titular**

**Dr. Eduardo Mormandi**

**3° Vocal Titular**

**Dra. María Rugiero**

**1° Vocal Suplente**

**Dr. Alberto Villagra**

**2° Vocal Suplente**

**Dra. M. de la Paz Domínguez**

**3° Vocal Suplente**

**Dra. Alejandra Svartz**

**COMISIÓN REVISORA DE CUENTAS**

**Titular 1°**

**Dra. Silvia Morilla**

**Titular 2°**

**Dra. Estella Meyer**

**Titular 3°**

**Dra. Silvia Cajiao**

**1° Vocal Suplente**

**Dra. Florencia Minotti**

**2° Vocal Suplente**

**Dra. Laura Colitto**

**COMISIONES INTERNAS**

**PRENSA Y DIFUSIÓN**

**Presidente: Dra. Rocío Romero**

**Secretaria: Dra. Florencia Minotti**

**Vocales: Dr. Eduardo Mormandi**

**Dra. Fabrina Capece**

**Dra. Nuria Cañellas**

**CERTIFICACIÓN**

**Presidente: Dr. Alberto Villagra**

**Secretaria: Dra. Viviana Osta**

**Vocal: Dra. María José Rial**

**COMISIÓN CULTURA**

**Presidente: Dra. Silvia Morilla**

**Secretario: Dr. Alberto Villagra**

**CURSOS**

**Presidente: Dra. Silvia González**

**Secretaria: Dra. María Soledad**

**Caldirola**

**Vocales: Dra. María José Rial**

**Dra. María de la Paz**

**Domínguez**

**Dra. Alejandra Svartz**

**Dra. Rocío Romero**

**Dra. Laura Colitto**

**COMITÉ CIENTÍFICO ASESOR**

**Dra. Mónica Aixalá**

**Dr. Gloria Alvarez**

**Dra. Liliana Arias**

**Dra. Alicia Blanco**

**Dr. Orlando Gabriel Carballo**

**Dra. Silvia González**

**Dr. César Colino**

**Dr. Eduardo Mormandi**

**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**

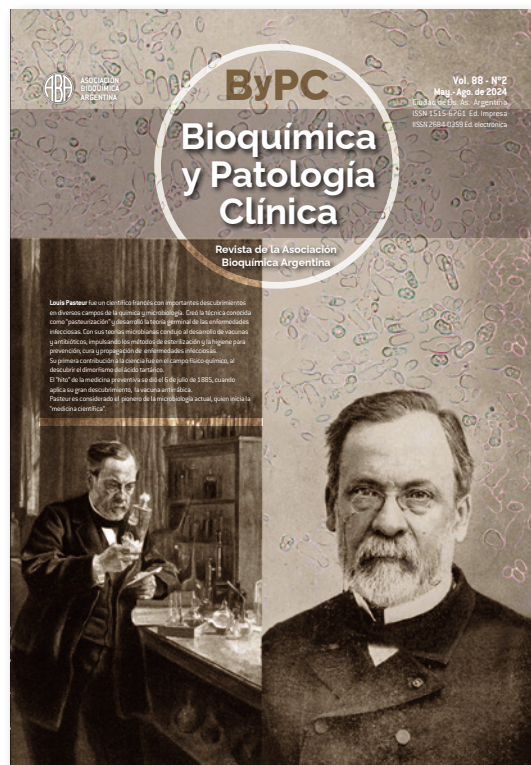
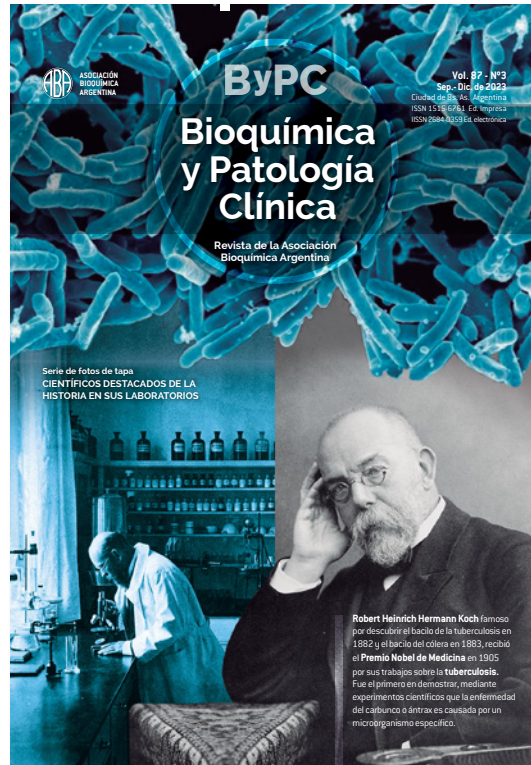
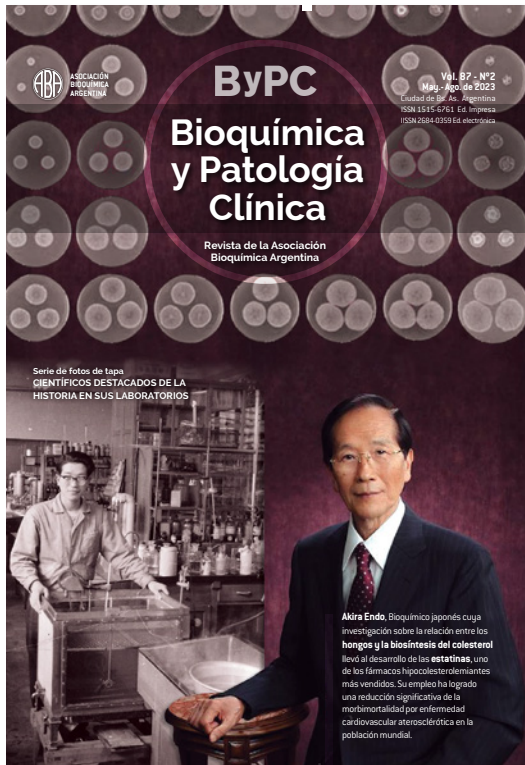
**Dra. Nilda Fink**

**Dr. Néstor Litwin**

**Dr. Miguel Angel De Cristóforo**

# ByPC

Bioquímica y Patología Clínica  
Revista de la Asociación Bioquímica Argentina



# REGLAMENTO DE PUBLICACIONES

## Instrucciones para los autores

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.

Para la preparación de manuscritos, se siguen los requerimientos de las Recomendaciones para la preparación, presentación, edición y publicación de trabajos académicos en revistas médicas (ICMJE, según su sigla en inglés) disponible en <http://www.icmje.org/icmjerecommendations.pdf>. Asimismo, se recomienda consultar las guías para publicación de distintos tipos de trabajos en:

<http://www.espanol.equator-network.org>.

La recepción de trabajos se realizará mediante el sistema OJS en la web oficial de la Revista ByPC:

<http://www.revistabypc.org.ar/>

Cualquier duda podrá despejarse ingresando al instructivo o solicitar asistencia a [revistabypc.aba@gmail.com](mailto:revistabypc.aba@gmail.com)

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.

## 1. Requisitos para el envío 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; número de ORCID; 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 una en página separada).
- Las ilustraciones no deben ser más grandes que 203 x 254 mm
- Incluir los permisos para reproducir material publicado previamente o usar imágenes que pueden identificar a las personas.

## 2. Carta al Director

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 3), nombre y apellido de todos los autores, número de ORCID, 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.

## 3. Secciones de la revista

Secciones	Extensión máxima palabras	Resumen extensión palabras	Referencias bibliográficas máx.	Nº máx. tablas y figuras	Nº máx. fotos
Artículo original	2500	250	40	6	2
Comunicación breve y Casos clínicos	1400	150	15	4	-
Actualización o Revisión*, o Artículos especiales	2000 4000	150	20 40		
Comentarios	1300	-	10		
Consensos y guías*	sin especificar	150			
Cartas al editor*	1500	-	5		
Comentarios a libros	800				

\* Revisiones, Cartas al Editor, guías y consensos

Las revisiones, cartas al editor, 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.

## 4. Preparación de los manuscritos

### 4.1. 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.

### 4.2 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; y el número de ORCID. 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.

#### **4.3 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 indización cruzada del artículo y deben ser publicadas con el artículo.

#### **4.4 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.

#### **4.5 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 subgru-

pos 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 (humanos o animales), 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). ByPC adhiere a las normas éticas establecidas por el Comité de Ética de las Publicaciones (Committee on Publication Ethics -COPE- <https://publicationethics.org/>). También, indicar las consideraciones éticas que correspondan si se han utilizado en el estudio animales de experimentación (Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio, CICUAL).

Se recomienda dividir la sección Materiales y Métodos mediante el empleo de subtítulos en el caso de ser demasiado extenso. Incluir una sección de "Análisis de datos" en la cual se describan las formas de expresión de los resultados y los métodos estadísticos empleados, si correspondiese. Estos deben ser descritos con suficiente detalle para permitir que un lector experto con acceso a los datos originales pueda comprobar los resultados que se presentan. Cuando sea posible, cuantificar los hallazgos y presentarlos con los indicadores de medida de error o de incertidumbre adecuados (como los intervalos de confianza).

Evitar basarse únicamente en la comprobación de hipótesis estadísticas, como el uso de valores p, que no dan información sobre la magnitud del efecto. Siempre que sea posible, las referencias sobre el diseño del estudio y los métodos estadísticos deberán corresponder a manuales o artículos habitualmente citados para tal fin (con los números de página incluidos). Definir también los términos estadísticos, abreviaturas y la mayoría de símbolos. Especificar el software utilizado.

En caso que corresponda, se sugiere incluir una sección de "Cálculo del tamaño muestral".

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 resuman en este apartado, los resultados numéricos no sólo deben presentar 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 edad y 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 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; y 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. La ayuda técnica debe ser agradecida en un párrafo aparte de los agradecimientos de otras contribuciones.

## **5. Aspectos que deben tenerse en cuenta en la redacción del manuscrito (Normas Vancouver actualizadas a 2016)**

### **5.1 Citas bibliográficas:**

Es la presentación textual o resumida, de ideas expresadas por otros autores que sirven de apoyo al investigador, se contraponen a lo que él dice o aportan mayor información sobre un tema determinado. Las citas son un tipo de texto incrustado en otro texto. Las citas en estilo Vancouver por lo general utilizan un sistema de secuencia numérica. Son numeradas consecutivamente en el orden de aparición en el texto. Se identifican con números arábigos entre corchetes, ejemplo [1].

a) Tipo de citas

- Cita directa: La que se transcribe textualmente. Ejemplo:

“La cita textual breve, de menos de cinco renglones, se inserta dentro del texto entre comillas, y el número correspondiente se coloca al final, después de las comillas y antes del signo de puntuación” [3].

- Cita corta: Menos de cinco renglones.
- Cita larga: Más de cinco renglones. Se escribe fuera del texto, dejando doble espacio y sangría, entre comillas y en bastardilla.
- Cita indirecta: Mención de las ideas de un autor con palabras de quien escribe. Se escribe dentro del texto sin comillas, el número de la referencia se escribe inmediatamente después de citar su idea. Ejemplo: La mortalidad infantil conduce a empeorar la calidad de vida de Medellín [5].

b) Tipo de cita según redacción

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

### **5.2 Referencias bibliográficas:**

- Conjunto de datos suficientemente detallados que permite identificar un documento. En el caso de que la referencia citada disponga de un identificador de objeto digital (DOI) u otro homologable (ARK, Handle, etc) esta información deberá formar parte de la referencia de acuerdo a las normas de Vancouver. 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 la 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

- Si una revista lleva paginación continua a través de un volumen (como muchas revistas médicas lo hacen), el mes y el número del volumen deben ser omitidos: Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary 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 guidelines. *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 assesement of nikel carcinogenicity and occupational lung cancer *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1: 275-82.
- Número con suplemento: Paybe DK, Sullivan ME, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 [1 Suppl 2. 89-97].
- Volumen con parte: Ozben T, Nacirarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 3): 303-6.
- Número con parte: People GH, Mills SM. One Hundred consecutive cases offlap lacerations of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1994,107 [986 PH]: 377-8.
- Número sin volumen: Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995; [320]:

110-4.

- Sin número, ni volumen: Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of the cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993; 325-33.
- Compaginación en números romanos: Fisher GA, Sikie BI. Drug in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr 9(2): xi xii.
- Tipo de artículo indizado tal como es requerido: Enzensberger W, Fischer PA. Metronome in Parkinson's disease [carta]. *Lancet* 1996; 347 1337. Clement J, De Bock R. Hematological complications of hantavirus nephropathy (HVN) [resumen] *Kidney Int* 1992; 42: 1285.
- Artículo conteniendo una retractación: Garcy CE, Schwarzman AL, Rise ML. Ceruloplasmin gene defect associated with epilepsy in EL mice [retraction de Garey CE, Schwarzman AL, Rise ML. In: *Nat Genet* 1994; 6.: 426-31]. *Nat Genet* 1995,11: 104.
- Artículo retractado: Liou GI, Wang M, Matragoon S. Precocious IRBPgene expression during mouse development [retractado en *Invest Ophtholmo 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° HHSI-GOEI69200860.
- 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° AHCP R282942008. 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 [videocassette]. St Louis (MO): Mosby-Year Book 1995.

#### h) Material legal

Ley Pública

Preventive Health Amendments of 1993, PubL. N° 103-183, 107 Stat, 2226 [Dec. 14, 1993].

Dispositivo no decretado

Medical Records Confidentiality Act of 1995, S. 1360, 104th Cong. 1st Sess [1995].

Código de regulaciones federales

Informed Consent, 42 C.F.R. Sect. 441. 257 [1995].

#### i) Material inédito

- En prensa o "en avance":  
Leshner AI. Molecular mechanisms of cocaine addiction. N Eng J Med. En prensa 1997

#### j) Material electrónico

- Artículo de una revista en formato electrónico:  
Morse SS. Factors in the emergence of infectious 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.

## 6. 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 antes de la tabla y aclaraciones al pie, 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".

## 7. 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.

## 8. 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.:  $p < 0,05$ ;  $32 \pm 2$  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)].
- 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].

# Laboratorios sin látex: un requisito para cuidar a toda la comunidad

En los laboratorios de análisis clínicos, la seguridad y la precisión son fundamentales para una atención centrada en el paciente. Sin embargo, hay un aspecto que a menudo pasa desapercibido: el látex natural.

En la década de 1980, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos establecieron el Sistema de Precauciones Universales como guía para prevenir la transmisión y el control de la infección por VIH y otros patógenos para el personal sanitario y sus pacientes. Recomendaron, entre otras medidas de bioseguridad, el uso de guantes como barrera para evitar la exposición a la sangre y a los fluidos corporales. Si bien esta disposición no especificaba que los guantes debían ser de látex de caucho natural, este fue el material predominantemente utilizado. La medida fue avalada y promovida por las aseguradoras de riesgo de trabajo, pero nada se dijo ni se mencionó acerca del peligro que su uso acarrea.

La alergia al látex es una patología 100% adquirida y potencialmente mortal, que puede desarrollarse en cualquier persona expuesta en forma precoz y/o reiterada a las proteínas de los productos elaborados con látex de caucho natural por contacto directo e indirecto o por inhalación de sus partículas aerosolizadas, a través de las vías cutánea y percutánea, serosa, mucosa, inhalatoria, digestiva y sanguínea.

El látex natural es una sustancia vegetal que se extrae del árbol del caucho o *Hevea brasiliensis*, de la familia de las Euphorbiaceae, y que contiene más de 250 proteínas, 60 de las cuales tienen la capacidad de comportarse como alérgenos potentes, responsables de los procesos de sensibilización, alergia y cuadros de anafilaxia mediados por anticuerpos específicos, que pueden implicar serio compromiso para la salud y la vida de los seres humanos.

En un entorno donde la seguridad del paciente es primordial, eliminar el látex natural de los laboratorios clínicos se convierte en una medida crucial y prioritaria que no solo protege a aquellos que ya cuentan con un diagnóstico confirmatorio de esta alergia tipo I, sino también, a quienes, estando sensibilizados, desconocen su condición.

La conversión hacia laboratorios seguros, sin látex, también optimiza la precisión de las pruebas. El látex natural y sus partículas asociadas pueden contaminar muestras de sangre y otros fluidos biológicos, lo que podría conducir a resultados incorrectos. Eliminar esta fuente de contaminación fortalece la integridad de los resultados de las pruebas, y los laboratorios pueden garantizar resultados más confiables sentando así las bases para una atención médica más segura y eficiente para todos.

La transición hacia la eliminación del látex no es solo un acto de responsabilidad médica, sino también una estrategia para proteger el bienestar del personal de la institución. Debido a que las posibilidades de sensibilizarse aumentan cuanto

mayor es la exposición a las proteínas alergénicas del látex, el personal de salud constituye uno de los grupos de riesgo con mayor incidencia de esta patología, circunstancia que convierte esta sensibilización en una enfermedad ocupacional reconocida por la Organización Internacional del Trabajo (OIT) desde el año 2010.

Llegó la hora de que los laboratorios clínicos den un paso adelante y abracen la conversión que lleve hacia instituciones seguras sin látex. Lograrlo requiere de una planificación exhaustiva para sustituir todos los materiales con látex natural por materiales sintéticos libres de látex y para educar al personal acerca de los riesgos que representa la exposición al látex natural, a fin de consolidar estas medidas de prevención en el ámbito laboral, pero también en toda la comunidad.

En la actualidad, existen proyectos de ley nacionales y provinciales que promueven la implementación de programas de prevención de la sensibilización y la alergia al látex de caucho natural, con el objetivo de garantizar en todo el territorio nacional el derecho a la salud de la población. Sin embargo, con la norma jurídica aún pendiente, no alcanza y, por ello, la Asociación Argentina de Alergia al Látex trabaja para difundir información sobre esta patología y abogar por el derecho a la salud sin exposición al látex natural. Esta asociación civil sin fines de lucro puede proporcionar asistencia técnica y apoyo a los laboratorios durante el proceso de conversión, incluyendo acompañamiento en la redacción de directrices, protocolos, listas de verificación, y la capacitación necesaria para consolidar un cambio de cultura organizacional. Por tal razón, convoco a los colegas, empleadores, propietarios, editores de revistas especializadas, funcionarios de seguridad y de salud y sindicatos para que hagan llegar información y recomendaciones a todos los trabajadores que puedan verse expuestos al látex natural para protegerlos y proteger a la comunidad, ya que, además de la alergia grave que puede adquirirse, este material es mutagénico y puede transmitirse a generaciones futuras a través del ADN de sus progenitores.

Cuidemos a los que nos cuidan y a toda nuestra comunidad a través de instituciones seguras sin látex.

**Bioq. Espec. José Magariños<sup>ID</sup>**  
Miembro del Comité Científico de AAAL



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

# Evaluación de test rápido, análisis de parámetros de laboratorio y serotipos circulantes en pacientes con diagnóstico confirmado de dengue durante marzo - abril del 2023 en zonas de CABA y Gran Buenos Aires

*Evaluation of rapid test, analysis of laboratory parameters and circulating serotypes in patients with a confirmed diagnosis of dengue during March-April 2023 in areas of Buenos Aires city and Greater Buenos Aires.*

Gómez, Alejandra Gabriela<sup>1\*</sup><sup>ORCID</sup>; López, Yanina<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Soler, Jazmín<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Losada, Graciela<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Rabellini, Sofía<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Tajés-Nuñez, Eugenia<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Mogollón-Molina, Natalia<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Ronanduan, Paula<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Dócimo, Agustina<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>; Oviedo, Florencia<sup>1</sup><sup>ORCID</sup>

<sup>1</sup>Biología Molecular, Laboratorio Central, Sanatorio Dr. Julio Méndez. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Gómez, Alejandra Gabriela. Sanatorio Julio A. Méndez, Av. Nicolás, Avellaneda 551 [C.P.1405], Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; [biologiamolecularesjm@gmail.com](mailto:biologiamolecularesjm@gmail.com).

## Resumen

**Introducción:** Durante marzo y abril de 2023, se registró un marcado aumento en el número de casos de dengue reportados en varias ciudades del país. En tal contexto, recopilamos y analizamos los resultados obtenidos a partir de 813 pacientes que concurren a la guardia del Sanatorio Dr. Julio Méndez con sospecha de dengue, provenientes de CABA y alrededores. **Objetivos:** Validar la prueba rápida inmunocromatográfica para el antígeno NS1 utilizado; establecer relación de positividad (RP) y serotipo circulante; analizar valores de recuento de leucocitos, plaquetas y de transaminasas de los pacientes diagnosticados con dengue. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de tipo descriptivo y transversal recopilando los resultados de antígeno NS1, recuento de leucocitos, plaquetas y niveles de transaminasas de pacientes con sospecha de dengue que se presentaron en la guardia del Sanatorio Dr. Julio Méndez durante marzo y abril de 2023. **Resultados:** Con los 100 primeros pacientes analizados, se realizó la validación de la prueba rápida inmunocromatográfica para antígeno NS1 utilizada comparándola con el método ELISA para NS1 del Laboratorio del Hospital General de Niños Dr Ricardo Gutiérrez. La concordancia entre ambos tests fue del 99%. La RP para infección por dengue en marzo fue de 61,8% y en abril, 62,2%. El serotipo circulante prevalente fue dengue tipo 2 (DEN-2) en un 90,6%. De los 432 pacientes con dengue confirmado por laboratorio, 142 (32,8%) presentaron recuento de leucocitos normales; 251 (58,1%), leucopenia moderada y 39 (9,1%), leucopenia severa. En cuanto al recuento de plaquetas, 260 (60%) arrojaron plaquetas normales, 168 (39%), plaquetopenia moderada y 4 (1%), trombocitopenia severa. Los valores de transaminasas, en 251 casos (58,2%), resultaron normales y en 181 (41,8%), elevados. **Conclusiones:** En los pacientes analizados, encontramos mayor prevalencia de leucopenia moderada y severa que de trombocitopenia en la misma intensidad.

**Palabras clave:** dengue, flavivirus, dengue grave, epidemiología, leucopenia, trombocitopenia, transaminasas.

## Abstract

**Introduction:** During March and April 2023, there was a marked increase in the number of reported dengue cases in several cities of Argentina. In this context, we collected and analyzed the results obtained from 813 patients with suspected dengue who attended the Julio Méndez Sanatorium (Buenos Aires), coming from the Buenos Aires metropolitan area. **Objectives:** i) To validate the rapid immunochromatographic test for the NS1 antigen used; ii) To establish the positivity ratio (PR) and circulating serotype; and iii) To analyze leukocyte, platelet and transaminase counts in patients diagnosed with dengue. **Results:** The rapid immunochromatographic test for NS1 antigen used was validated in the first 100 patients analyzed, comparing it with the ELISA method for NS1 from the Ricardo Gutierrez National Hospital Laboratory (Buenos Aires). The agreement between both tests was 99%. The PR for dengue infection in March was 61.8%, whereas that in April was 62.2%. In 90.6% of the patients, the prevalent circulating serotype was dengue type 2 (DEN-2). Of the 432 patients with laboratory-confirmed dengue, 142 (32.8%) had normal leukocyte counts, 251 (58.1%) had moderate leukopenia, and 39 (9.1%) had severe leukopenia. Regarding the platelet count, 260 (60%) showed normal platelets, 168 (39%) had moderate thrombocytopenia and 4 (1%) showed severe thrombocytopenia. Transaminase values were normal in 251 cases (58.2%) and high in 181 (41.8%). **Conclusions:** In the patients analyzed, the prevalence of moderate and severe leukopenia was higher than that of thrombocytopenia of the same intensity.

**Key words:** dengue, flavivirus, severe dengue, epidemiology, leukopenia, thrombocytopenia, transaminases.

## Introducción

El dengue es una infección vírica que se transmite de los mosquitos a las personas más frecuentemente en las regiones de climas tropicales y subtropicales. Cada año se producen entre 100 y 400 millones de infecciones en el ámbito mundial. Se utilizan medicamentos que alivian el dolor y la fiebre, pero, por el momento, no hay tratamiento específico.<sup>1</sup>

En una primera etapa, los síntomas pueden involucrar: fiebre elevada (40°C), dolor de cabeza intenso, dolor retroocular, dolores musculares y articulares, náuseas, vómitos, adenopatías y sarpullido, aunque la enfermedad puede ser cursada de manera asintomática. Cuando desaparece la fiebre, pueden presentarse síntomas del dengue grave como dolor abdominal intenso, vómitos persistentes, respiración acelerada, hemorragias en las encías o la nariz, cansancio, agitación, vómitos o heces con sangre, sed intensa, piel pálida y fría, debilidad general<sup>1</sup>.

Las metodologías disponibles hasta el momento para realizar el estudio de este virus, según el Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Emergentes y Zoonóticas (NCEZID, por sus siglas en inglés) incluyen: técnicas inmunocromatográficas para detección de anticuerpos (tipo IgG e IgM) y del antígeno NS1; técnicas inmunoenzimáticas (EIA o ELISA) para detección de anticuerpos (tipo IgG o IgM) y del antígeno NS1; técnicas de inmunofluorescencia (FIA) para detección del antígeno NS1; técnicas de biología molecular para amplificación de ácidos nucleicos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *real time*, destinadas a la detección del genoma viral y la tipificación de serotipos.

Los diferentes serotipos del virus del dengue se transmiten a los humanos mediante picaduras de mosquitos *Aedes* (Ae) infectados, principalmente de *Aedes aegypti*.

El virus del dengue (DENV) existe en forma de cuatro serotipos, DENV 1, 2, 3 y 4 (DENV 1-4). La infección con un serotipo conduce a inmunidad de largo término hacia esa variante. Durante un corto período, también se manifiesta protección cruzada contra los otros tres<sup>2</sup>, seguido este de un lapso indeterminado durante el cual la infección con otro serotipo puede conducir a enfermedad grave<sup>3</sup>.

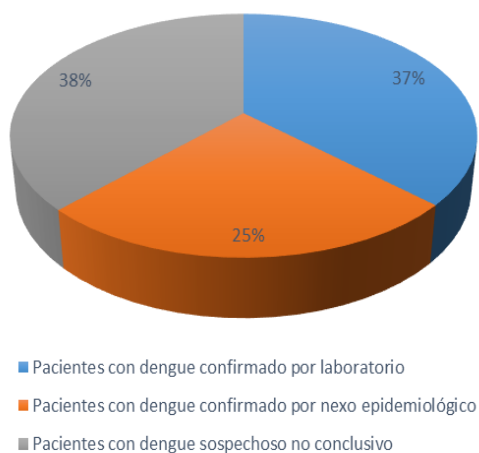
Luego de la picadura del mosquito, el virus se disemina por el sistema linfático hacia estómago, timo, pulmón, tracto gastrointestinal, hígado, riñón y cerebro.<sup>4</sup> Se generan apoptosis y necrosis celular; esta libera productos tóxicos que activan los sistemas de coagulación y fibrinólisis. El proceso de hematopoyesis se deprime y resulta en una disminución de plaquetas y leucocitos en sangre. Por lo tanto, en la mayoría de los casos, se esperan resultados de laboratorio con elevación de las transaminasas, hepatomegalia y recuentos plaquetarios disminuidos.

Las pruebas de laboratorio más comunes para medir las alteraciones de la coagulación son el tiempo de protrombina (TP) y el tiempo parcial de tromboplastina (TPT), las cuales muestran asociación entre sus resultados y el sangrado espontáneo en dengue.<sup>5</sup>

La alta carga viral en sangre, el tropismo por las células

**Figura 1.** Clasificación de los pacientes estudiados durante el mes de abril de 2023 según los resultados de dengue obtenidos.

### Pacientes con sospecha de dengue abril 2023 Total (n=284)



endoteliales y la disfunción plaquetaria por la trombocitopenia generan alta fragilidad capilar, que puede causar dengue severo hemorrágico (DSH) y manifestaciones clínicas como petequias, hematomas, sangrado gastrointestinal. También, los megacariocitos infectados son destruidos por los anticuerpos generados.<sup>2,3,6</sup>

En los pacientes con fiebre de dengue (FD), se manifiesta una leucopenia moderada. La misma es atribuida a la depresión de las células mielopoyéticas por el virus<sup>7,8</sup>, el cual aumenta la permeabilidad capilar provocando pérdida de fluidos, que puede conducir a shock hipovolémico y falla multiorgánica.<sup>4,7-9</sup>

La mayoría de los casos hospitalizados en las regiones donde circulan los cuatro serotipos se debe a infecciones posteriores a la primaria. Una teoría para el aumento de la severidad de la enfermedad es la acción de anticuerpos no neutralizantes unidos al virus, los que facilitan la entrada a las células a través de receptores de fragmento Fc, favoreciendo la replicación viral.<sup>10</sup>

Los objetivos de este estudio fueron: a) Determinar las características analíticas del test rápido utilizado para diagnóstico de dengue marca ALL TEST, método inmunocromatográfico de observación visual directa, b) Establecer la relación de positividad de los pacientes estudiados en el Sanatorio Dr. Julio Méndez con sospecha de dengue, c) Caracterizar los valores de recuento de leucocitos, plaquetas y transaminasas de los pacientes con diagnóstico confirmado de dengue y d) Identificar los serotipos circulantes.

## Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio de tipo descriptivo y transversal recopilando los resultados de antígeno NS1, recuento

de leucocitos, plaquetas y niveles de transaminasas de pacientes adultos y pediátricos con sospecha de dengue que se presentaron en la guardia del Sanatorio Dr. Julio Méndez entre el 01/03/2023 y el 30/04/2023. El estudio fue aprobado por el Comité de Docencia e Investigación del sanatorio.

A todos los pacientes se les hizo una anamnesis y se les confeccionó una ficha epidemiológica, obtenida de la página del Ministerio de Salud de la Nación para "Síndrome Febril Agudo Inespecífico".<sup>11</sup> Además, se les realizó hemograma, hepatograma y la investigación del Antígeno NS1 y de anticuerpos IgM anti-DENV (anticuerpos antiviral de dengue) por inmunocromatografía a todos los pacientes que concurren a la guardia entre el día 1 y 10 de iniciados los síntomas (FIS). En el caso de NS1 positivo, se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para identificación de los serotipos 1, 2, 3 o 4.

Los hemogramas se realizaron en los contadores hematológicos SYSMEX XN 1000 y SYSMEX XP 300 con reactivos marca Sysmex. Los hepatogramas se realizaron con COBAS C 501/ COBAS 6000 v2 de Roche y COBAS C 311. Se utilizaron tests rápidos de antígeno NS1 y anticuerpos IgM e IgG realizados con marca ALL TEST, método de inmunocromatografía, observación visual. Los datos aportados por el fabricante indican: sensibilidad (S)=94,3% [87,2%-98,1%] y especificidad (E)=99,1% [87,7%-99,7%].

Para fines confirmatorios, a los primeros 100 pacientes analizados por test de inmunocromatografía se les tomó una muestra adicional de suero y plasma con EDTA para realizar NS1 por método *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) y eventual PCR de serotipo en el laboratorio de referencia de la Ciudad de Buenos Aires.

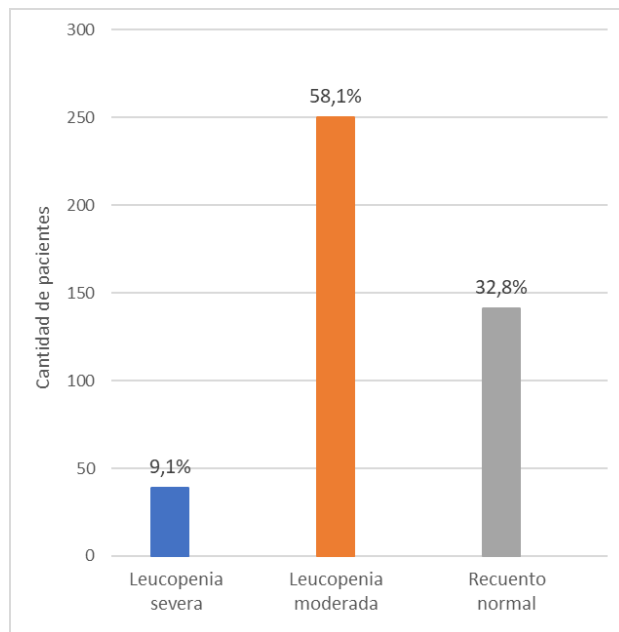
La confirmación de los tests de antígeno NS1 se realizó con el método ELISA de captura en microplaca para detección de antígenos NS1 del virus de dengue, PLATELIA Dengue NS1 Ag, Biorad, cuyas características, indicadas por el fabricante, son S=91% [85,8%-94,8%], E=100% [99,4%-100%]. La confirmación de la detección de anticuerpos IgM para dengue se realizó por ELISA de captura en microplaca para detección de IgM DENV, Panbio, Abbott Diagnostics S=94,7%, E=100% con el lector de microplacas ELISA: Awareness Technology Inc., Sta Fax-2100,

La reacción de RT-PCR en tiempo real en formato Multiplex se realizó con sondas Taqman para detección de DENV1-4, Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2013. S=97,9% [89,1%-99,6%], E=100% [90,8%-100%].

A las muestras NS1 negativas con alta sospecha clínica de padecer enfermedades transmisibles por mosquitos *Aedes* (ETMAa), se les realizó PCR para chikungunya, RT-PCR en tiempo real en formato Multiplex con sondas Taqman para detección de chikungunya, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2007. S=97,9% [89,1%-99,6%], E=100% [90,8%-100%] (HNRG). Para realizar las RT-PCR se utilizaron cicladores CFX96, Biorad.

Los análisis estadísticos y los gráficos se realizaron con el programa Microsoft Excel 2013.

**Figura 2.** Pacientes clasificados según los valores de leucocitos medidos al momento del ingreso.



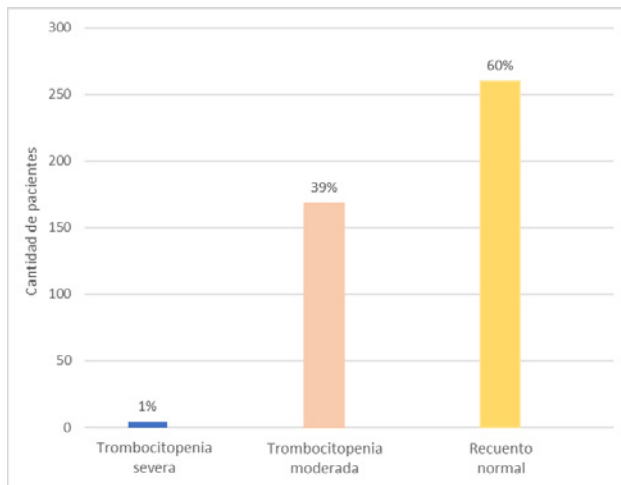
► Leucopenia severa ( $<2,5 \times 10^3$  leucocitos/mL), leucopenia moderada ( $2,5$  a  $4,49 \times 10^3$  leucocitos/mL) y recuento de leucocitos normales ( $>4,5 \times 10^3$  leucocitos/mL).

## Resultados

Se analizaron 813 muestras que correspondieron a 570 adultos y 243 niños, 487 mujeres y 326 varones, con sospecha de dengue. De las primeras 100 muestras analizadas, 62 fueron positivas y 38, negativas para NS1, provenientes de 60 mujeres y 40 varones entre 2 y 93 años; procesadas para NS1 por inmunocromatografía, y enviadas al laboratorio de referencia HNRG para confirmación por método ELISA, se obtuvo concordancia del 99 % en los resultados obtenidos. Siguiendo con el algoritmo utilizado al inicio de la epidemia, suministrado por el Ministerio de Salud del Gobierno de la Ciudad de Buenos Aires, a las muestras positivas para NS1, se les realizó PCR para dengue con el objetivo de identificar su serotipo, y a las negativas con alta sospecha de padecer enfermedades transmisibles por mosquitos *Aedes* (ETMAa), se les realizó PCR para chikungunya.

Durante el mes de marzo, todas las muestras recibidas de pacientes con sospecha de dengue fueron analizadas, y se obtuvo una tasa de positividad de 61,8 %. En el mes de abril, debido a la escasa disponibilidad de reactivos para diagnóstico en CABA por la alta demanda de testeos en pacientes sintomáticos, entre los días 3 y 13 de abril de 2023, los pacientes con sospecha de dengue que residían en los barrios con alta circulación viral (Flores, Floresta, Liniers, Mataderos, Monte Castro, Palermo, Parque Avellaneda, Versalles, Vélez Sarsfield, Villa Devoto, Villa del Parque, Villa Lugano, Villa Luro y Villa Santa Rita), se clasificaron como "caso confirmado por nexo epidemiológico", según

**Figura 3.** Pacientes clasificados en función de los valores de plaquetas obtenidos en el momento de ingreso.



► Trombocitopenia severa (<75x10<sup>3</sup> plaquetas/mL), trombocitopenia moderada (75 a 150x10<sup>3</sup> plaquetas/mL) y recuento de plaquetas normales (>150x10<sup>3</sup> plaquetas/mL).

lo dispuesto por la resolución NO-2023-13796458-GCABA-SSPSGER del Gobierno de CABA y según informes de la Dirección Provincial de Epidemiología de Buenos Aires.<sup>12,13</sup> Solo 1 de cada 20 pacientes clasificados por este criterio fueron enviados para identificación de serotipos por PCR al HNRG, según algoritmo sugerido. Considerando ambos criterios (resultados de laboratorio y nexa epidemiológico), la tasa de positividad fue del 62,3 % para abril.

De 284 pacientes con sospecha de dengue, se confirmaron 177 casos (62,2 %), 105 (36,2 %), por laboratorio, y por nexa epidemiológico, 72 (25,3 %); 107 fueron clasificados como “dengue sospechoso no conclusivo”, lo que representa un porcentaje del 37,8 %. (Figura 1)

Durante el período estudiado (marzo y abril de 2023), el serotipo más prevalente en las muestras en nuestra institución fue el dengue tipo 2 (DENV 2) con un porcentaje de 90,6 %, seguido de dengue tipo 1 (DENV 1) con un 9,4 %, coincidente con los reportes de las respectivas jurisdicciones de procedencia de los pacientes en la región del AMBA.<sup>12,13</sup>

En la Figura 2, se observan los resultados de recuento de leucocitos: 142 pacientes (32,8 %) presentaron valores normales; 251 pacientes (58,1 %), leucopenia moderada y 39 (9,1 %), leucopenia severa. En cuanto a las plaquetas, 260 pacientes (60 %) presentaron recuento normal; 168 (39 %), trombocitopenia moderada y solo 4 pacientes (1 %), trombocitopenia severa (Figura 3).

Cabe señalar que varios pacientes que cursaban la enfermedad por dengue con recuento de plaquetas de alrededor de 160.000/mm<sup>3</sup> arrojaban resultados anteriores en el Sistema de Laboratorio del orden de 320.000/mm<sup>3</sup> plaquetas, en estudios de control. Los mismos hallazgos se observaron en pacientes que mostraban disminución en el recuento de leucocitos a la mitad de sus datos históricos.

En los pacientes con dengue confirmado por laboratorio con NS1 positivo tanto por inmunocromatografía como por ELISA, las transaminasas arrojaron valores elevados en 181 (41,8 %), en un rango observado de 34 hasta 450 UI/l.

Solo un 5 % de los pacientes requirió hospitalización, tratándose de personas con varias comorbilidades (diabetes, obesidad, hipertensión, inmunosuprimidos). En estos, no se pudo confirmar si correspondían a una primera infección o subsiguientes, dado que no contábamos con un método robusto para detección de IgG para dengue. El 95 % de los casos restantes resolvió el evento de forma ambulatoria, con síntomas que duraron entre 7 y 15 días.

Dentro de este bimestre marzo - abril, en aquellos pacientes que presentaron fiebre persistente, mialgias, artralgias, con o sin derrame ocular y resultado negativo para dengue, se realizó detección por PCR para virus chikungunya. En consecuencia, se estudiaron por PCR 74 pacientes (56 en marzo, 18 en abril), de los cuales 6 arrojaron resultado detectable. A su vez, 2 de estos pacientes no tenían antecedentes de viaje previo, y, en consecuencia, se confirmó circulación viral de este flavivirus.

## Discusión

La leucopenia y trombocitopenia son alteraciones ampliamente asociadas a la infección por DENV.<sup>14</sup> Hay evidencia clínica sobre el compromiso hepático en esta infección, que incluye hepatomegalia y aumento de transaminasas. Este aumento tiende a normalizarse en los 14 a 21 días posteriores a la infección.<sup>15</sup>

Si bien la trombocitopenia es una de las alteraciones más documentadas<sup>16</sup>, la mayoría de los pacientes de este estudio presentaron valores de plaquetas normales (59,5 %). Sin embargo, estos valores resultaron significativamente menores que los recuentos previos de control. Ante esta evidencia, se resalta la importancia de analizar los valores obtenidos en el contexto de los antecedentes del paciente. Aunque la trombocitopenia suele mencionarse como el indicador más frecuente en la enfermedad aguda, en este estudio se observó que la leucopenia tanto moderada como severa se presentó con mayor frecuencia.

En cuanto a las transaminasas, en el 58,2 % de los casos arrojaron valores normales y en el 41,8 %, elevados, independientemente de los resultados de leucocitos y plaquetas, siendo a veces el único parámetro alterado. Este hallazgo puede deberse a que, como se mencionó anteriormente, los recuentos de plaquetas y leucocitos pueden encontrarse dentro del rango de referencia, a pesar de haber disminuido a la mitad del valor en estudios previos de control, fuera de la etapa de fiebre por dengue.

## Referencias bibliográficas

1. OMS. Dengue y dengue grave [Internet]. 2023. [Consultado jun 24]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
2. Anderson KB, Gibbons RV, Cummings DA, Nisalak A, Green S, Libraty DH, et al. A shorter time interval between first and second dengue in-

- fections is associated with protection from clinical illness in a school-based cohort in Thailand. *J Infect Dis.* 2014;209(3):360-8, <https://doi.org/10.1093/infdis/jit436>
3. Halstead SB, Nimmannitya S, Cohen SN. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease severity to antibody response and virus recovered. *Yale J. Biol Med.* 1970;42(5):311-28. PMID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2591704/>
  4. Begum F, Das S, Mukherjee D, Mal S, Ray U. Insight into the Tropism of Dengue Virus in Humans. *Viruses.* 2019; 11(12):1136, <https://doi.org/10.3390/v11121136>
  5. Díaz-Quijano F. Predictores de sangrado espontáneo en dengue: una revisión sistemática de la literatura. *Invest. clín [Internet].* 2008. [citado 2023 Dic 04]. 49(1):111-122. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=372937670012>
  6. Hannaoui R, Erika J, Sulbarán MZ, Campos MA. Características clínicas y parámetros hematológicos de pacientes con fiebre dengue y mononucleosis infecciosa. *Kasmera.* 2005;33(2):93-101.
  7. Zerfu B, Kassa T, Legesse M. Epidemiology, biology, pathogenesis, clinical manifestations, and diagnosis of dengue virus infection, and its trend in Ethiopia: a comprehensive literature review. *Trop Med Health.* 2023;51(1):11, <https://doi.org/10.1186/s41182-023-00504-0>
  8. Pang X, Zhang R, Cheng G. Progress towards understanding the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Virol Sin.* 2017;32(1):16-22, <https://doi.org/10.1007/s12250-016-3855-9>
  9. Bhatt P, Sabeena SP, Varma M, Arunkumar G. Current Understanding of the Pathogenesis of Dengue Virus Infection. *Curr Microbiol.* 2021;78(1):17-32, <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02284-w>
  10. Morens D. Antibody-Dependent Enhancement of Infection and the Pathogenesis of Viral Disease. *Clin Infect Dis.* 1994;19(3):500-12, <https://doi.org/10.1093/clinids/19.3.500>
  11. Ficha Síndrome Febril Agudo Inespecífico (SFAI). Ministerio de Salud de la Nación. [Internet]. 2016. [citado ene 24]. Disponible en: [https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/10/ficha\\_epidemiologica\\_sfai\\_en\\_area\\_no\\_endemica\\_de\\_fha.pdf](https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2019/10/ficha_epidemiologica_sfai_en_area_no_endemica_de_fha.pdf)
  12. Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Boletín epidemiológico semanal. Boletín N° 346, Año 8, SE12. [Internet] 2023. Disponible en: <https://buenosaires.gob.ar/salud/boletines-epidemiologicos-semanales-2023>
  13. Boletín Informativo Marzo 2023. Dirección Provincial de Epidemiología. [Internet] 2023. Disponible en: [https://www.ms.gba.gov.ar/sitios/media/files/2023/04/Bolet%C3%ADn-epidemiol%C3%B3gico\\_12.pdf](https://www.ms.gba.gov.ar/sitios/media/files/2023/04/Bolet%C3%ADn-epidemiol%C3%B3gico_12.pdf)
  14. Kittigul L, Pitakarnjanakul P, Sujirarat D, Siripanichgon K. The differences of clinical manifestations and laboratory findings in children and adults with dengue virus infection. *J Clin Virol.* 2007;39(2):76-81, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2007.04.006>
  15. Seneviratne SL, Malavige GN, de Silva HJ. Pathogenesis of liver involvement during dengue viral infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006;100(7):608-14, <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2005.10.007>
  16. Low GKK, Jiee SF, Masilamani R, Shanmuganathan S, Rai P, Manda M et al. Routine blood parameters of dengue infected children and adults. A meta-analysis. *Pathogens and Global Health.* 2023;117(6):565-589, <https://doi.org/10.1080/20477724.2022.2161864>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

Ferroptosis, un mecanismo de muerte celular presente en  $\beta$ -talasemia menor*Ferroptosis, a cell death mechanism present in  $\beta$ -thalassemia minor*

Terán, Magdalena María<sup>1\*</sup>; Mónico, María Eugenia<sup>2</sup>; Haro, Cecilia<sup>1</sup>; Ledesma Achem, Miryam Emilse<sup>1</sup>; Alvarez Asensio, Natalia Sofía<sup>1</sup>; Agüero Aguilera, Ana Carolina<sup>1</sup>; Lazarte, Sandra Stella<sup>1</sup>; Issé, Blanca Alicia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Bioquímica Aplicada, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

<sup>2</sup>Instituto de Biología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

\*Contacto: Terán, Magdalena María. Instituto de Bioquímica Aplicada. Balcarce 747. San Miguel de Tucumán. Tucumán. Argentina. CP 4000; magdalena.teran@fbqf.unt.edu.ar

## Resumen

Introducción: La ferroptosis es un tipo de muerte celular programada, dependiente de hierro, impulsada por una severa peroxidación lipídica, la cual es consecuencia del metabolismo celular y de una homeostasis redox desequilibrada. La  $\beta$ -talasemia es una anemia hereditaria que cursa con eritropoyesis ineficaz y hemólisis, cuya complicación más importante es la sobrecarga de hierro. Objetivos: Identificar y caracterizar proteínas de la membrana eritrocitaria implicadas en la ferroptosis en pacientes con rasgo  $\beta$ -talasémico (RBT). Materiales y Métodos: Se estudió el proteoma de membranas de eritrocitos desprovistos de hemoglobina de 4 sujetos RBT (grupo RBT) y 4 sujetos control por HPLC acoplado a espectrometría de masa. El análisis e identificación de proteínas se realizó empleando Proteome Discoverer V1.4, y el software Perseus para su cuantificación. Se utilizó la plataforma BlastKOALA para la caracterización funcional de cada proteína. Resultados: Se encontró que las proteínas PCBP 1 y 2 (chaperonas del hierro que favorecen su depósito), P67 y P40 (subunidades catalíticas de la NADPH oxidasa) y ALOX15 (marcadora de peroxidación lipídica), proteínas involucradas en la vía ferroptótica, aumentaron significativamente en el grupo RBT ( $p < 0,05$ ), y su abundancia fue 3,1; 4,4; 3,3; 4,7 y 3 veces mayor que en el grupo control, respectivamente. Conclusiones: La sobreexpresión de proteínas implicadas en la ferroptosis en portadores de  $\beta$ -talasemia avala la participación de este tipo de muerte celular no apoptótica en la fisiopatología de esta anemia hereditaria.

**Palabras clave:** ferroptosis,  $\beta$ -talasemia, hierro, estrés oxidativo.

## Abstract

Introduction: Ferroptosis is an iron [Fe]-dependent programmed cell death driven by severe lipid peroxidation, which is a consequence of cell metabolism and imbalanced redox homeostasis.  $\beta$ -thalassemia is a hereditary anemia that causes ineffective erythropoiesis and hemolysis, with iron overload being its most important complication. Objectives: The purpose of the study was to identify and characterize erythrocyte membrane proteins involved in ferroptosis in patients with  $\beta$ -thalassemia trait (BTT). Materials and Methods: The proteome of hemoglobin-depleted erythrocyte membranes from four BTT subjects and four control subjects was examined by HPLC coupled to mass spectrometry. Proteins were analyzed and identified using Proteome Discoverer V1.4 and quantified using the Perseus software. The BlastKOALA platform was used to characterize each protein functionally. Results: The following ferroptotic pathway proteins were significantly increased in the BTT group ( $p < 0.05$ ): PCBP 1 and 2 (iron chaperones that favor its deposition), P67 and P40 (NADPH oxidase catalytic subunits), and ALOX15 (lipid peroxidation marker), whose abundance was 3.1 and 4.4, 3.3 and 4.7, and 3 times higher than in the control group, respectively. Conclusions: The overexpression of proteins involved in ferroptosis in BTT carriers supports the contribution of this non-apoptotic cell death to  $\beta$ -thalassemia pathophysiology.

**Key words:** Ferroptosis,  $\beta$ -thalassemia, iron, oxidative stress.

## Introducción

La beta ( $\beta$ )-talasemia se caracteriza por una síntesis reducida de la subunidad  $\beta$  de hemoglobina, que produce anemia microcítica hipocrómica y cantidades reducidas de hemoglobina A (HbA). La disminución o ausencia del número de cadenas  $\beta$  produce un exceso relativo de cadenas alfa ( $\alpha$ ). Las  $\alpha$ -globinas libres forman agregados que se autooxidan, desnaturalizan y precipitan como hemocromos en los eritroblastos talasémicos. Como resultado, se generan especies reactivas de oxígeno (ERO), así como grupo hem y hierro en su forma libre. Las ERO, que también son producidas a partir del hierro libre mediante la reacción de Fenton, oxidan lípidos, ácidos nucleicos y proteínas celulares. La evidencia existente sugiere claramente que el exceso de cadenas de  $\alpha$ -globina libres es directamente responsable de la hemólisis y la eritropoyesis ineficaz, los dos principales mecanismos fisiopatológicos que causan anemia en pacientes  $\beta$ -talasémicos<sup>1,2</sup>. El estrés oxidativo (EOx) constituye un factor primordial que influye en el comportamiento y en la gravedad de la anemia de los sujetos con  $\beta$ -talasemia. Últimamente, se ha revelado en sujetos con rasgo  $\beta$ -talasémico un incremento de superóxido dismutasa (SOD) y de malondialdehído (MDA, indicador de peroxidación lipídica) a nivel sistémico<sup>3</sup>. En este contexto de EOx, se ha demostrado la relevancia fisiopatológica de la eritropoyesis, un mecanismo de muerte celular específico de los glóbulos rojos, distinto de la hemólisis accidental y de la senescencia celular, en condiciones de anemia<sup>4</sup>. De acuerdo con las

últimas recomendaciones del Comité de Nomenclatura de Muerte Celular, formuladas en 2018, actualmente, existen dos tipos de muerte celular, a saber, la muerte celular accidental (MAC) y la muerte celular regulada (MCR)<sup>5</sup>. La MAC es un proceso de muerte celular descontrolado e inevitable que resulta de un estrés severo químico, físico o mecánico, mientras que la MCR puede ser controlada por intervenciones farmacológicas o genéticas. La MCR se divide, además, en formas apoptóticas y no apoptóticas (por ejemplo, ferroptosis, necroptosis, piroptosis, cuproptosis y *alkaloptosis*), que tienen diferentes características de inducción de señal y modulación molecular, así como implicancias en distintas enfermedades<sup>6,7</sup>.

La ferroptosis es una forma de MCR no apoptótica, cuyo mecanismo está relacionado con la acumulación de hierro, y es causada por la peroxidación de los lípidos, así como también, por una acumulación excesiva de ERO. El término fue propuesto en 2012 por el laboratorio del Dr. Brent R. Stockwell. Según su estudio original, la ferroptosis es notablemente distinta de otros tipos de MCR, como la apoptosis, la necroptosis y la muerte celular autofágica, morfológica, bioquímica y genéticamente<sup>8</sup>.

La muerte celular ferroptótica se caracteriza por la acumulación excesiva de  $Fe^{2+}$  libre y la generación de radicales libres altamente reactivos. Un paso crítico e indispensable en la inducción de la ferroptosis es la degradación autofágica de la ferritina, proceso conocido como *ferritinofagia*<sup>9</sup>. Esta cascada de eventos, junto a sustratos resultantes de

**Tabla 1.** Grupos de proteínas sobrerreguladas en la condición de rasgo  $\beta$ -talasémico

Proceso celular	Proteínas involucradas	Número de acceso
Crecimiento y muerte celular		
Estrés oxidativo	Araquidonato 15-lipoxigenasa (alox 15)	P16050
	<i>Poly(rc)-binding protein 2</i> (pcbp2)	Q15366
	<i>Poly(rc)-binding protein 1</i> (pcbp1)	Q15365
	Nadph oxidasa subunidad-p40phox	K08012
	Nadph oxidasa subunidad-p67phox	K08010
Metabolismo proteico- señalización celular		
Proteína - quinasas	Tirosina-proteína quinasa (syk)	P43405
Inflamación		
Proinflamatorias	Proteína de shock térmico de 70 kilodalton (hsp 70)	P08238
Metabolismo del glutatión		
Defensa antioxidante	Glutatión s-transferasa kappa 1 (gstk1)	Q9y2q3
	Isocitrato deshidrogenasa 1/2 (idh1/2)	P48735
	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (g6pd)	K00036

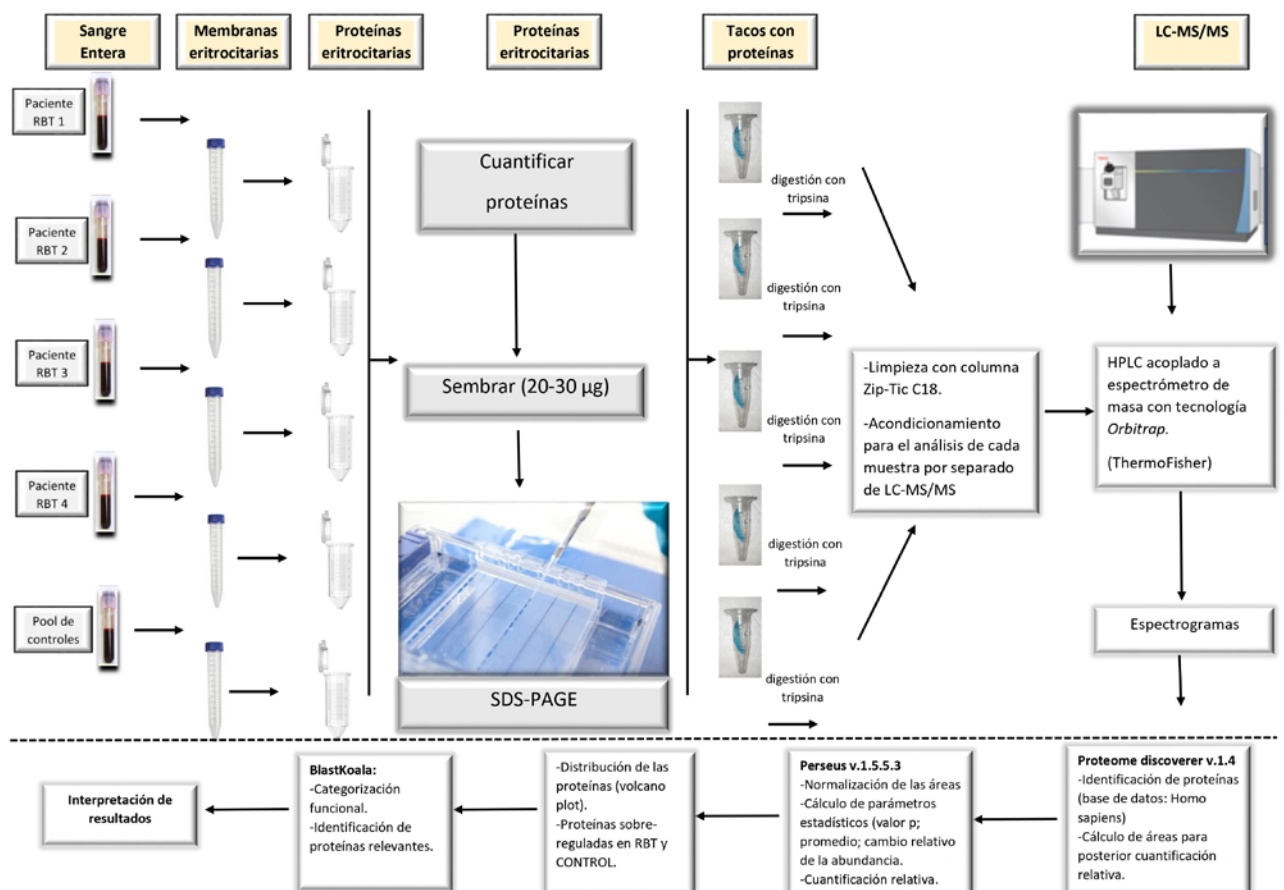
la peroxidación de fosfolípidos que contienen cadenas de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), conduce a una oxidación severa de los fosfolípidos de membrana<sup>10,11</sup>. Se han identificado múltiples inductores e inhibidores de la ferroptosis que afectan la acumulación de productos de peroxidación lipídica y ERO derivadas del metabolismo del hierro. Paradójicamente, el papel exacto del hierro en la ferroptosis es aún poco claro; sin embargo, su participación está inequívocamente indicada por la fuerte inhibición de la muerte celular asociada con la quelación del hierro o la limitación en la disponibilidad de este metal<sup>8</sup>. Durante la ferroptosis, se produce el agotamiento del glutatión (GSH) como consecuencia de la inhibición de la captación de cistina o de la inactivación de la selenoproteína glutatión peroxidasa 4 (GPX4), lo que provoca la acumulación de ERO dependientes de hierro y, finalmente, la muerte celular<sup>12</sup>. Además, la reducción de los niveles de selenio aumenta la susceptibilidad a la ferroptosis debido a la deficiencia de GPX4<sup>13</sup>. Se ha observado que el sistema antiportador de aminoácidos Xc- (compuesto por las proteínas SLC7A11 y SLC3A2) desempeña un rol fundamental en la regulación del estrés oxidativo y la ferroptosis, al ser responsable del intercambio de cistina y glutamato en la membrana celular<sup>4</sup>. La inhibición de este sistema también puede contribuir a la acumulación de ERO y al desarrollo de la ferroptosis. La función de GPX4 en la reducción de

peróxidos de lípidos tóxicos resulta crucial para suprimir la ferroptosis en células normales<sup>14</sup>.

Se ha demostrado que la ferroptosis está ampliamente involucrada en enfermedades de múltiples sistemas, es decir, enfermedades del sistema nervioso, cardíacas, hepáticas, gastrointestinales, pulmonares, renales y pancreáticas. En cuanto al sistema sanguíneo, se ha descubierto que la ferroptosis juega un papel importante en muchas neoplasias hematológicas, tales como la leucemia, linfoma y mieloma múltiple<sup>15</sup>.

El gran número de genomas secuenciados en los últimos años condujo a lo que se conoce como *era posgenómica*. Básicamente, la era posgenómica se caracteriza por el desarrollo de herramientas utilizadas para entender las funciones de un genoma. Una de las herramientas desarrollada fue la proteómica, la cual utiliza la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (MS) para la separación de péptidos y posterior identificación de los mismos. Teniendo en cuenta el estrés oxidativo presente en el rasgo  $\beta$ -talasémico (RBT), sumado a un metabolismo del hierro desbalanceado, el propósito del estudio fue determinar si este tipo de MCR, la ferroptosis, podría estar presente en los sujetos portadores de esta anemia hereditaria. Para ello, se identificaron y caracterizaron proteínas de la membrana eritrocitaria implicadas en la ferroptosis en pacientes con RBT mediante MS.

**Figura 1.** Esquema de trabajo utilizado para la obtención de péptidos, LC-MS/MS y análisis de datos.



## Materiales y Métodos

El estudio incluyó individuos aparentemente sanos (grupo control) y sujetos con RBT (grupo RBT), que fueron detectados en el Instituto de Bioquímica Aplicada de la Universidad Nacional de Tucumán (UNT). El diagnóstico de los portadores de  $\beta$ -talasemia se realizó mediante electroforesis de hemoglobina (Hb) en acetato de celulosa a pH alcalino, y el dosaje de la HbA<sub>2</sub> con microcolumna de intercambio iónico (BioSystems, España). Las mutaciones  $\beta$ -talasémicas se estudiaron con PCR tiempo real<sup>16</sup>. Todos los participantes firmaron una declaración de consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la UNT.

Para obtener las proteínas de la membrana eritrocitaria, fue necesario extraer la Hb del interior de los mismos, ya que esta proteína se encuentra en gran cantidad en los hematíes y podría interferir en la visualización de las demás proteínas eritrocitarias. De este modo, se obtuvieron glóbulos rojos “fantasmas” y, luego, a partir de las membranas de dichas células, se realizó la cuantificación proteica (Figura 1). Para ello, los glóbulos rojos se separaron por centrifugación a baja velocidad a partir de una muestra de sangre entera anticoagulada con EDTA. Las células aisladas se lavaron con solución fisiológica fría y luego, con un tampón de fosfato sódico [NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5 mM más NaCl 150 mM, pH 8]. Para extraer la Hb de los glóbulos rojos, la muestra se suspendió en tampón de lisis frío [4°C] [NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 5 mM, pH 8] durante 5 minutos. El paso de lisis en frío se repitió dos veces más para producir fantasmas blancos con un contenido mínimo de Hb. El *pellet* obtenido fue finalmente resuspendido en solución fisiológica<sup>17</sup>.

A partir de las membranas obtenidas con mínimo contenido de Hb, se determinó la concentración de las proteínas de la membrana eritrocitaria. Para ello se determinó la lectura de absorbancia a 280 nm usando un espectrofotómetro UV/Vis para microvolumen DeNovix DS-11+ (Wilmington, USA). Luego, se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida SDS (SDS-PAGE). Finalmente, las proteínas de membrana eritrocitaria separadas

en el gel se sometieron a análisis por cromatografía líquida con espectrometría de masas (LC-MS/MS) en el Centro de Estudios Químicos y Biológicos en Espectrometría de Masa de la Universidad de Buenos Aires (CEQUIBIEM- CONICET- UBA).

Los espectros obtenidos fueron analizados con el programa Proteome Discoverer V1.4 (Thermo Scientific). Este programa permite identificar los péptidos y asignar un valor de área a cada proteína. Para la identificación de los péptidos, se utilizó la base de datos proteica de *Homo sapiens*. Una vez obtenidos los valores de área para cada proteína, se normalizaron y calcularon parámetros estadísticos utilizando el programa Perseus V1.5.5.3. Los valores de área fueron expresados como log<sub>2</sub>.

Se usó la plataforma BlastKOALA para la caracterización funcional de cada proteína<sup>18</sup>. BlastKOALA es la herramienta que permite relacionar el proteoma de membrana eritrocitaria con diferentes rutas metabólicas asociadas a proteínas relevantes sobreexpresadas. La información obtenida permitió identificar las proteínas involucradas en la patología talasémica y su contexto metabólico.

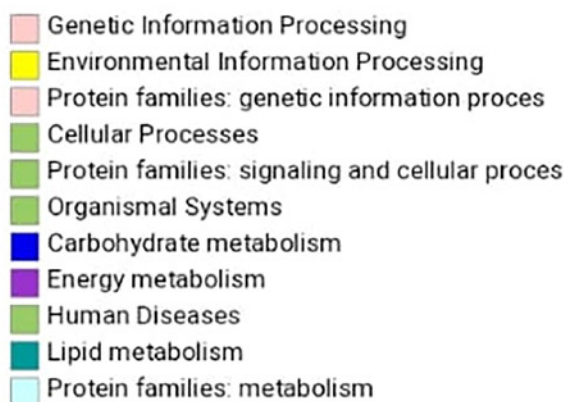
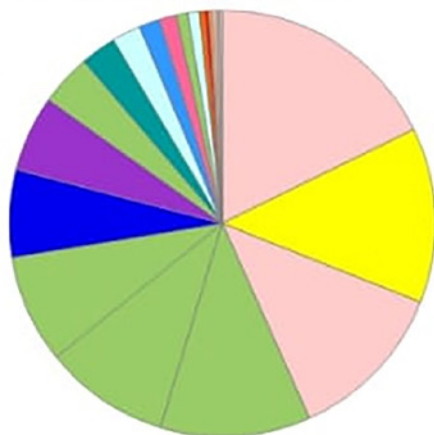
Las proteínas se consideraron significativamente sobreexpresadas cuando: i) la prueba T de Student mostró un valor de  $p < 0,05$ ; ii) evidenciaron un cambio relativo mayor de 2 (dos) entre las abundancias promedio (*fold change* > 2). De acuerdo con el programa Perseus, el valor de  $p$  se expresó como  $-\log p$ , donde un valor igual o mayor de 1,3 indicaba una diferencia significativa entre las abundancias. Se calculó también un parámetro denominado *T-test Difference* RBT-control, que contempla la diferencia entre el promedio de las áreas de cada proteína en las condiciones RBT y control ( $\log_2$  RBT –  $\log_2$  control). Así, los parámetros  $-\log p$  y *T-test Difference* se utilizaron para construir un gráfico de distribución de proteínas (*Volcano Plot*). Este gráfico representa la distribución de las proteínas en relación con sus abundancias en ambas condiciones. Para estimar el límite de detección del equipo en cuanto a la abundancia de una proteína, se consideró el percentil noventa y nueve del área de todas las proteínas identificadas por Proteome Discoverer.

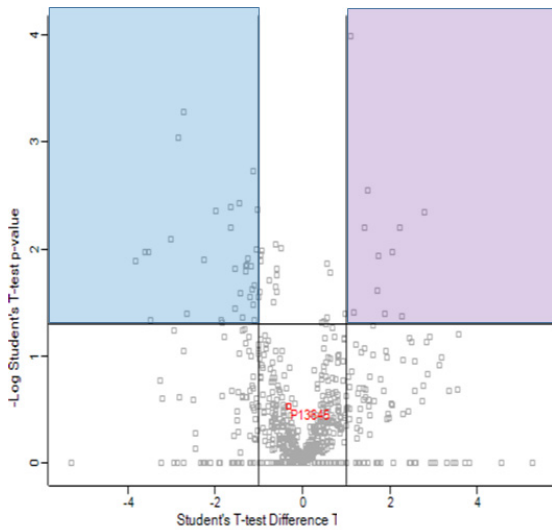
**Figura 2.** Categorización funcional mediante BlastKOALA

Resumen

693 entradas (90,4%) anotadas.

Categoría funcional



**Figura 3.** Volcano plot de las proteínas sobrerreguladas.

► Color violeta, grupo control; color celeste, grupo rasgo  $\beta$ -talasémico.

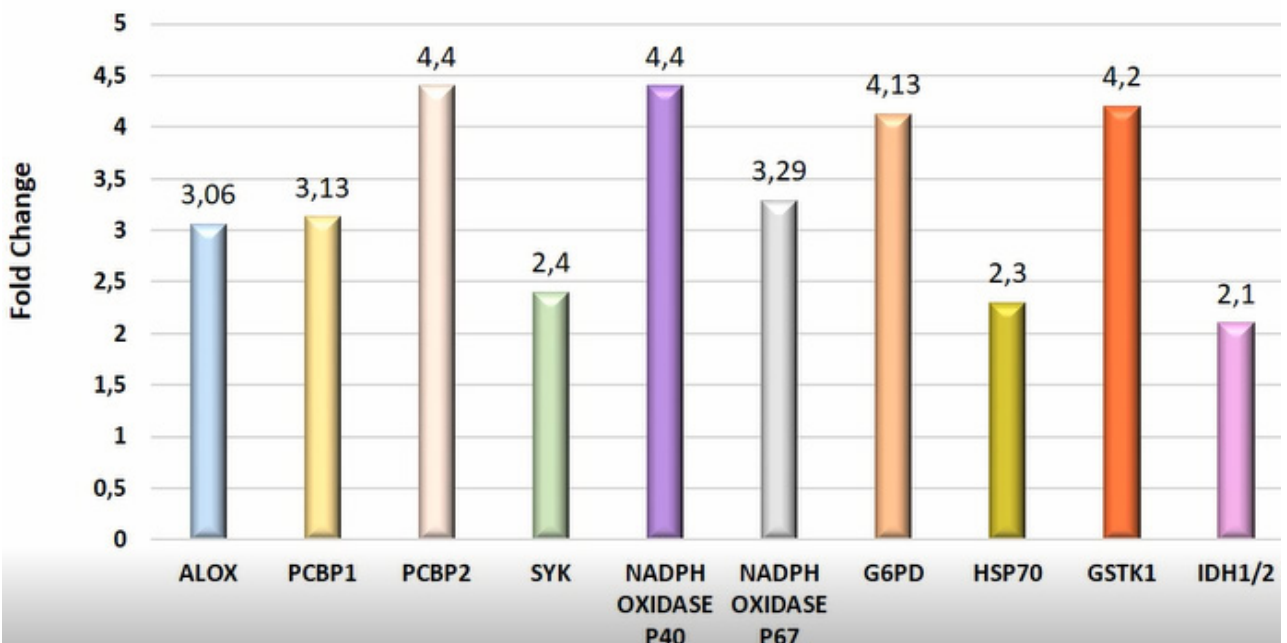
## Resultados

Se estudiaron 4 [cuatro] sujetos con RBT y 4 [cuatro] individuos aparentemente sanos, todos adultos y de sexo femenino. Dos pacientes  $\beta$ -talasémicas portaban la mutación CD39, mientras que las otras dos exhibieron la mutación IVS1-1.

Del proteoma total detectado [693 proteínas], se identificaron 258 proteínas sobrerreguladas en la condición RBT.

La Figura 2 muestra la categorización funcional de las proteínas realizada con el programa BlastKOALA. Se seleccionaron proteínas relevantes relacionadas con el entorno anti / prooxidante e inflamatorio; 12 estuvieron sobrerreguladas en el grupo control, y 33, en el grupo RBT (Figura 3). En la Tabla I se muestran las proteínas sobrerreguladas del grupo RBT, involucradas en distintos procesos celulares. En los pacientes con RBT, se detectaron las siguientes proteínas involucradas en la vía ferroptótica: ALOX15 [araquidonato 15-lipooxigenasa] marcadora de peroxidación lipídica, cuya abundancia fue 3 veces mayor que en el grupo control ( $p < 0,05$ ); PCBP 1 y 2 [*Poly(rc)-binding protein 1 y 2*], chaperonas del hierro [Fe] que favorecen su depósito, aumentaron significativamente 3,1 y 4,4 veces, respectivamente; P67 y P40, dos subunidades catalíticas de la NADPH oxidasa, estuvieron sobreexpresadas 3,3 y 4,7 veces más en la condición RBT que en los individuos controles (Figura 4).

Asimismo, el estudio proteómico mostró que un marcador de estrés celular inducido por temperatura, compuestos tóxicos o estrés oxidativo, la proteína de shock térmico de 70 kilodalton (HSP 70) y otra proteína implicada en acciones metabólicas y de señalización, la tirosina-proteína quinasa [SYK], aumentaron su abundancia en el grupo RBT. Además, las proteínas involucradas en la protección celular contra el desequilibrio redox, como la glutatión S-transferasa kappa 1 [GST $\kappa$ 1], la isocitrato deshidrogenasa 1/2 [IDH1/2] y la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa [G6PD], mostraron niveles más altos en esta anemia (Figura 4).

**Figura 4.** Abundancia de proteínas sobrerreguladas en el grupo portadores de  $\beta$ -talasemia .

► ALOX, 15 Araquidonato 15-lipooxigenasa; PCBP1, Poly[rc]-binding protein 1; PCBP2, Poly[rc]-binding protein 2; SYK, Tirosina-proteína quinasa; NADPH, oxidasa subunidad-p40phox; NADPH oxidasa subunidad-p67phox; G6PD, Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; HSP 70, Proteína de shock térmico de 70 kDa; GSTK1, Glutatión s-transferasa kappa 1; IDH1/2, Isocitrato deshidrogenasa 1/2; Fold change, veces del cambio.

## Discusión

El fenotipo complejo de las  $\beta$ -talasemias y varias complicaciones relacionadas con el tratamiento subrayan la necesidad de identificar métodos moleculares novedosos para la estratificación de los pacientes y su manejo terapéutico. El uso de metodologías ómicas permite identificar nuevas variantes/secuencias de genes, transcritos, ARN no codificantes, proteínas, metabolitos, etc., involucrados en la patogénesis de la  $\beta$ -talasemia<sup>19</sup>. En particular, el análisis proteómico proporciona información sobre el papel de las proteínas en los eventos biológicos. A través del análisis de datos multiómicos, Zhou et al. han propuesto que la pérdida de la función del gen de globina  $\beta$  (HBB) en las células progenitoras eritroides humanas conduce a una mayor producción de ERO y de estrés oxidativo, lo que provoca un aumento en la tasa de apoptosis, pero ellos no estudiaron específicamente la ferroptosis<sup>20</sup>.

Este trabajo presenta el primer conjunto de datos proteómicos que compara la membrana de los glóbulos rojos de los portadores  $\beta$ -talasémicos con la de un grupo control, con respecto al contenido de proteínas implicadas en la ferroptosis. Se reconocieron 5 (cinco) proteínas involucradas en dicha vía: ALOX15, PCBP 1 y 2 y las subunidades de NADPH oxidasa, P40 y P67.

ALOX15 es una enzima que oxida los ácidos grasos poliinsaturados, particularmente los ácidos grasos omega-6 y -3, para generar una serie de metabolitos lipídicos bioactivos. Se expresa constitutivamente en varios tipos de células (reticulocitos, eosinófilos, células dendríticas, macrófagos alveolares, entre otros) y está implicada en una variedad de enfermedades, que incluyen aterosclerosis, hipertensión, diabetes, obesidad y trastornos neurodegenerativos<sup>21</sup>. Varios autores han demostrado que la peroxidación lipídica catalizada por ALOX15 en las membranas celulares promueve la ferroptosis<sup>22,23</sup>.

PCBP1 y PCBP2 funcionan como chaperonas de hierro al unirse al metal y facilitar su transferencia a otras proteínas a través de interacciones proteína-proteína mediadas por metales<sup>24</sup>. PCBP1 desempeña un papel fundamental en la homeostasis del hierro sistémico, ya que ratones *knockout* (KO) para la PCBP1 hepatocito-específica muestran niveles bajos de ferritina hepática, disfunción mitocondrial y peroxidación lipídica mediada por ERO<sup>25</sup>. Asimismo, se ha sugerido que las PCBP podrían regular indirectamente los niveles de hierro en los enterocitos mediante la unión de PCBP2 al transportador de metales divalentes 1 (DMT1) y ferroporina (Fpn1), facilitando así la absorción celular de hierro<sup>26</sup>. Los resultados de varios autores señalan que la regulación negativa de PCBP1/2 se relaciona con la pérdida de la capacidad de los hepatocitos para controlar las reacciones químicas del hierro, lo que sugiere un papel importante en la prevención de la ferroptosis<sup>25,27,28</sup>. En nuestro estudio, observamos una mayor abundancia de estas chaperonas en pacientes con RBT, lo cual podría indicar un potencial efecto regulador de la ferroptosis.

Es importante destacar que los pacientes incluidos en este estudio mostraron recuentos normales de reticulocitos, lo que indica una respuesta compensatoria adecuada a la anemia, aunque presentaron niveles de ferritina significativamente elevados en comparación con los controles. Es relevante mencionar que ninguno de los pacientes recibió tratamiento con quelantes de hierro, lo que sugiere que los niveles elevados de ferritina podrían ser atribuidos principalmente a la eritropoyesis ineficaz y la sobrecarga de hierro asociada con la  $\beta$ -talasemia. Estos hallazgos, junto con la mayor abundancia de PCBP1 y PCBP2, respaldan el posible papel modulador de estas chaperonas en la ferroptosis en pacientes con RBT.

Las NADPH oxidasas actúan como catalizadores en la formación del radical anión superóxido y la producción de otras ERO, como el peróxido de hidrógeno, que conduce al estrés oxidativo y causa daño a las macromoléculas. La NADPH oxidasa tiene siete isoformas conocidas: NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1 y DUOX2. Estas isoformas se componen de varias subunidades catalíticas centrales: P22<sup>phox</sup>, P47<sup>phox</sup>, P67<sup>phox</sup>, P40<sup>phox</sup>, DUOX activador 1, DUOX activador, NOXA1 y NOXO1<sup>29</sup>. P67<sup>phox</sup> es una proteína citosólica no glicosilada que contiene un dominio de activación requerido para la activación de NOX2, mientras que P40<sup>phox</sup> es una proteína que promueve el ensamblaje de la oxidasa en la membrana<sup>30</sup>. En el hígado de ratones  $\beta$ -talasémicos *Hbb<sup>th3/+</sup>*, la actividad de la NADPH oxidasa se mostró aumentada, aunque no fue a expensas de las isoformas hepáticas más frecuentes, NOX1, NOX2 y NOX4<sup>31</sup>. Por otro lado, Yao et al.<sup>32</sup> han demostrado que la inhibición de la NADPH oxidasa atenúa la ferroptosis en un modelo murino de obesidad y diabetes probando la relación de las NADPH oxidasas con este mecanismo de MCR.

El cribado proteómico también permitió reconocer mayor abundancia de proteínas involucradas en el estrés oxidativo y en la inflamación (HSP 70, SYK, GST $\kappa$ 1, IDH1/2 y G6PD). Asimismo, Kittivorapart et al. describieron el aumento de 19 proteínas en vesículas extracelulares (VEx) presentes en el plasma de individuos con  $\beta$ -talasemia/HbE, entre las cuales se encontraban HSP 70 y enzimas antioxidantes como catalasa, SOD y peroxirredoxina 2<sup>33</sup>. Li et al. también detectaron mayor abundancia de HSP 70 en plasma de pacientes con  $\beta$ -talasemia mayor e intermedia, mientras que Tzounakas et al. reconocieron que proteínas de shock térmico y proteína-quinasas estaban sobrerreguladas tanto en el proteoma de membranas como de VEx eritrocitarias de portadores  $\beta$ -talasémicos<sup>34,35</sup>. En condiciones normales, HSP 70 transloca al núcleo y protege a GATA1 de la escisión por caspasa-3. En la  $\beta$ -talasemia, el exceso de cadenas de globina  $\alpha$  libres secuestra HSP 70 en el citoplasma, impide la expresión normal de GATA1, favorece la apoptosis y provoca una eritropoyesis ineficaz<sup>36</sup>.

Por otro lado, los perfiles proteómicos de cultivos de células progenitoras eritroides, procedentes de pacientes con  $\beta^0$ -talasemia/HbE definieron un estado metabólico oxidati-

vo más activo que el de los controles normales<sup>37</sup>. El estrés oxidativo en la  $\beta$ -talasemia es consecuencia de la patología molecular caracterizada por el exceso de globina  $\alpha$  y por la sobrecarga de hierro, que involucran muchos mecanismos destructivos en el nivel celular y hasta fallas orgánicas en los pacientes que la padecen. La presencia de estrés oxidativo, así como de hierro libre, seguida de una lipoperoxidación lipídica, son eventos previos necesarios para desencadenar la ferroptosis.

Entre las limitaciones del estudio, se puede mencionar el tamaño pequeño de la muestra. Por tal motivo, se necesitaría una investigación más profunda para definir el papel de la ferroptosis en la  $\beta$ -talasemia.

Utilizando proteómica de las membranas celulares de los glóbulos rojos, este trabajo reveló la sobreexpresión de proteínas involucradas en la ferroptosis en portadores de  $\beta$ -talasemia respaldando la idea de que probablemente este tipo de muerte celular no apoptótica desempeña un papel importante en la fisiopatología de esta anemia hereditaria.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés

### Referencias bibliográficas

- Mettananda S, Higgs DR. Molecular basis and genetic modifiers of thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2018; 32(2): 177-91, <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2017.11.003>
- Oikonomidou PR, Rivella S. What can we learn from ineffective erythropoiesis in thalassemia? *Blood Rev* 2018; 32(2): 130-43, <https://doi.org/10.1016/j.blre.2017.10.001>
- Terán MM, Mónaco ME, Lazarte SS, Haro C, Ledesma Achem E, Asensio NA, Issé BA. Genetic regulation of redox balance in  $\beta$ -thalassemia trait. *Hemoglobin* 2020; 44(2): 122-7, <https://doi.org/10.1080/03630269.2020.1765794>
- Dreischer P, Duszynski M, Stein J, Wieder T. Eryptosis: Programmed Death of Nucleus-Free, Iron-Filled Blood Cells. *Cells*. 2022;11(3):503, <https://doi.org/10.3390/cells11030503>
- Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, Abrams JM, Adam D, Agostinis P, et al. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018. *Cell Death Differ* 2018; 25: 486-541, <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- Chen X, Li J, Kang R, Klionsky DJ, Tang D. Ferroptosis: machinery and regulation. *Autophagy* 2021; 17(9): 2054-81, <https://doi.org/10.1080/15548627.2020.1810918>
- Li Y, Du Y, Zhou Y, Chen Q, Luo Z, Ren Y, Chen X, Chen G. Iron and copper: critical executioners of ferroptosis, cuproptosis and other forms of cell death. *Cell Commun Signal*. 2023;21(1):327, <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01267-1>
- Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell* 2012; 149(5): 1060-72, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Latunde-Dada GO. Ferroptosis: Role of lipid peroxidation, iron and ferritinophagy. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2017 ;1861(8):1893-1900, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2017.05.019>
- Galaris D, Barbouti A, Pantopoulos K. Iron homeostasis and oxidative stress: An intimate relationship. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2019; 1866(12): 118535, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2019.118535>
- Liang D, Minikes AM, Jiang X. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling. *Mol Cell*. 2022;82(12):2215-2227, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.03.022>
- Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, Shimada K, Skouta R, Viswanathan VS, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell* 2014; 156: 317-31, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>
- Xie Y, Kang R, Klionsky DJ, Tang D. GPX4 in cell death, autophagy, and disease. *Autophagy*. 2023 ;19(10):2621-2638, <https://doi.org/10.1080/15548627.2023.2218764>
- Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, Tyurina YY, Tyurin VA, Hammond VJ, et al. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice. *Nat Cell Biol* 2014; 16(12): 1180-91, <https://doi.org/10.1038/ncb3064>
- Zhao Y, Huang Z, Peng H. Molecular mechanisms of ferroptosis and its roles in hematologic malignancies. *Front Oncol*. 2021, 27;11: 743006, <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.743006>
- Lazarte SS, Mónaco ME, Haro AC, Jiménez CL, Ledesma Achem ME, Issé BA. Molecular characterization and phenotyping study of  $\beta$ -thalassemia in Tucumán, Argentina. *Hemoglobin* 2014; 38 (6): 394-401, <https://doi.org/10.3109/03630269.2014.968784>
- Heinrich V, Ritchie K, Mohandas N, Evans E. Elastic thickness compressibility of the red cell membrane. *Biophys J* 2001; 81(3): 1452-63, [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)75800-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)75800-6)
- Kanehisa M, Sato Y, Morishima K. BlastKOALA and GhostKOALA: KEGG tools for functional characterization of genome and metagenome sequences. *J Mol Biol* 2016; 428(4): 726-31, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.11.006>
- Katsantoni E. Omics studies in hemoglobinopathies. *Mol Diagn Ther* 2019; 23(2): 223-34, <https://doi.org/10.1007/s40291-019-00386-1>
- Zhou G, Zhang H, Lin A, Wu Z, Li T, Zhang X, et al. Multi-Omics analysis in  $\beta$ -thalassemia using an hbb gene-knockout human erythroid progenitor cell model. *Int J Mol Sci* 2022; 23(5): 2807, <https://doi.org/10.3390/ijms23052807>
- Singh NK, Rao GN. Emerging role of 12/15-Lipoxygenase [ALOX15] in human pathologies. *Prog Lipid Res* 2019; 73: 28-45, <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2018.11.001>
- Shintoku R, Takigawa Y, Yamada K, Kubota C, Yoshimoto Y, Takeuchi T, et al. Lipoxygenase-mediated generation of lipid peroxides enhances ferroptosis induced by erastin and RSL3. *Cancer Sci* 2017; 108(11): 2187-94, <https://doi.org/10.1111/cas.13380>
- Cai W, Liu L, Shi X, Liu Y, Wang J, Fang X, et al. Alox15/15-HpETE aggravates myocardial ischemia-reperfusion injury by promoting cardiomyocyte ferroptosis. *Circulation* 2023; ;147(19):1444-1460, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.122.060257>
- Bayur H, Anthony-muthu TS, Tyurina YY, Patel SJ, Amoscato AA, Lamade AM, et al. Achieving life through death: redox biology of lipid peroxidation in ferroptosis. *Cell Chem Biol* 2020; 27(4): 387-408, <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.03.014>
- Protchenko O, Baratz E, Jadhav S, Li F, Shakoury-Elizeh M, Gavrillova O, et al. Iron chaperone poly rC binding protein 1 protects mouse liver from lipid peroxidation and steatosis. *Hepatology* 2021, 73: 1176-93, <https://doi.org/10.1002/hep.31328>
- Yanatori I, Richardson DR, Imada K, Kishi F. Iron export through the transporter ferroportin 1 is modulated by the iron chaperone PCBP2. *J Biol Chem* 2016, 291: 17303-18, <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.721936>
- Lee J, You JH, Roh JL. Poly(rC)-binding protein 1 represses ferritinophagy-mediated ferroptosis in head and neck cancer. *Redox Biol* 2022; 51: 102276, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2022.102276>
- Zhang J, Ding N, Xin W, Yang X, Wang F. Quantitative proteomics reveals that a prognostic signature of the endometrium of the polycystic ovary syndrome women based on ferroptosis proteins. *Front Endocrinol [Lausanne]* 2022; 13: 871945, <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.871945>
- Joshi S, Khan SR. NADPH oxidase: a therapeutic target for hyperoxaluria-induced oxidative stress - an update. *Future Med Chem* 2019; 11(23): 2975-8, <https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0275>
- Chocry M, Leloup L. The NADPH oxidase family and its inhibitors. *An-*

- tioxid Redox Signal 2020; 33(5): 332-53, <https://doi.org/10.1089/ars.2019.7915>
31. Bou-Fakhredin R, Dia B, Ghadieh HE, Rivella S, Cappellini MD, Eid AA, Taher AT. CYP450 mediates reactive oxygen species production in a mouse model of  $\beta$ -thalassemia through an increase in 20-HETE activity. *Int J Mol Sci* 2021; 22(3): 1106, <https://doi.org/10.3390/ijms22031106>
  32. Yao W, Liao H, Pang M, Pan L, Guan Y, Huang X, et al. Inhibition of the NADPH oxidase pathway reduces ferroptosis during septic renal injury in diabetic mice. *Oxid Med Cell Longev* 2022: 1193734, <https://doi.org/10.1155/2022/1193734>
  33. Kittivorapart J, Crew VK, Wilson MC, Heesom KJ, Siritanaratkul N, Toye AM. Quantitative proteomics of plasma vesicles identify novel biomarkers for hemoglobin E/ $\beta$ -thalassemic patients. *Blood Adv* 2018; 2(2): 95-104, <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017011726>
  34. Li N, An P, Wang J, Zhang T, Qing X, Wu B, et al. Plasma proteome profiling combined with clinical and genetic features reveals the pathophysiological characteristics of  $\beta$ -thalassemia. *iScience* 2022; 25(4): 104091, <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104091>
  35. Tzounakas VL, Anastasiadi AT, Dzieciatkowska M, Karadimas DG, Stamoulis K, Papassideri IS, et al. Proteome of stored RBC membrane and vesicles from heterozygous beta thalassemia donors. *Int J Mol Sci* 2021; 22(7): 3369, <https://doi.org/10.3390/ijms22073369>
  36. Arlet JB, Ribeil JA, Guillem F, Negre O, Hazoume A, Marcion G, et al. HSP70 sequestration by free  $\alpha$ -globin promotes ineffective erythropoiesis in  $\beta$ -thalassaemia. *Nature* 2014; 514(7521): 242-6, <https://doi.org/10.1038/nature13614>
  37. Leecharoenkiet A, Wannatung T, Lathanatudom P, Svasti S, Fucharoen S, Chokchaichamnankit D, et al. Increased oxidative metabolism is associated with erythroid precursor expansion in  $\beta^0$ -thalassaemia/Hb E disease. *Blood Cells Mol Dis* 2011; 47(3): 143-57, <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2011.06.005>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercia- Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir [copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato] y adaptar [remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra] siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Estrategia de comparación de métodos para la determinación de ionograma sérico basado en un sistema documental

## Strategy to compare methods for the determination of serum ionogram based on a documentary system

Labanti Mauricio<sup>1\*</sup>, Peralta Silvia<sup>1</sup>, Collino Cesar Juan Gerardo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Laboratorio, Hospital G. Rawson. Córdoba, Argentina.

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

\*Contacto: Labanti, Mauricio. Hospital G. Rawson, Bajada Pucará 2025 (C.P. 5001). Córdoba, Argentina; mauriciolabanti@gmail.com.

### Resumen

Introducción: La estimación de la concentración de iones en sangre es un marcador utilizado frecuentemente para la valoración de pacientes en estado crítico con síndrome agudo respiratorio severo, causado por el Coronavirus 2 (SARS CoV-2), cuya importancia se destaca para pacientes internados en las Unidades de Terapia Intensiva. Objetivo: Realizar una comparación de métodos entre uno potenciométrico indirecto para la cuantificación de iones Na<sup>+</sup> (sodio), K<sup>+</sup> (potasio) y Cl<sup>-</sup> (cloro) y otro potenciométrico directo en muestras de suero. Se realizó dicha comparación con muestras de pacientes internados en el Hospital Rawson, utilizando como guía los documentos que integran el Manual de Calidad del Servicio de Laboratorio. Materiales y Métodos: Se trabajó con un total de 50 pacientes diagnosticados de SARS CoV-2, internados en las salas de Unidad de Terapia Intensiva (UTI), y se cuantificaron en suero los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>. Se utilizó el programa MedCalc®. Resultados: Na<sup>+</sup>: coeficiente de correlación (r) de 0,9884 [IC95%:[0,9796-0,9934]]; p<0,0001. Por procedimiento de Passing-Bablok, recta:  $y=4,1613[IC95\%:{-3,1533 - 8,4688}]+0,9677[IC95\%:{0,9375 - 1,0219}]x$ . K<sup>+</sup>: arrojó un r de 0,9989 [IC95%:[0,9980 - 0,9994]]; p<0,0001. Por procedimiento de Passing-Bablok, recta:  $y=0,3477[IC95\%:{0,2975 - 0,4018}]+0,9362[IC95\%:{0,9213 - 0,9500}]x$ . Cl<sup>-</sup>: arrojó un r de 0,9847 [IC95%:[0,9730 - 0,9913]]; p<0,0001. Por procedimiento de Passing-Bablok, recta:  $y=-0,5702[IC95\%:{-6,3248 - 3,5492}]+1,0268[IC95\%:{0,9545 - 1,0828}]x$ . Conclusión: La comparación de métodos realizada arrojó una correlación satisfactoria entre los equipos Abbott Architect C4000 y Roche Cobas b221 para Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, lo que confirmó que ambos métodos miden de forma comparable. Para K<sup>+</sup>, serán necesarios futuros estudios incrementando la cantidad de datos evaluados, buscando una mejor correlación, ya que el r es un estadístico sensible a los extremos del rango reportable.

**Palabras clave:** documentos, comparación, método, equipos, ionograma.

### Abstract

Introduction: The assessment of the concentration of ions in the blood is a marker frequently used to evaluate patients with Severe Acute Respiratory Syndrome caused by the virus Coronavirus 2 (SARS CoV-2) in critical condition and is especially important in patients hospitalized in Intensive Care Units (ICU) Objective: To compare an indirect potentiometric method and a direct potentiometric method in serum samples for the quantification of Na<sup>+</sup> (sodium), K<sup>+</sup> (potassium), and Cl<sup>-</sup> (chlorine) ions. The study was carried out with samples from patients hospitalized at Rawson Hospital, Córdoba, Argentina using the Laboratory Service Quality Manual documents as a guide. Materials and Methods: We worked with 50 patients diagnosed with SARS CoV-2 admitted to the ICU wards, and the analytes Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> were quantified in serum. The MedCalc® program was used. Results: Na<sup>+</sup>: Correlation coefficient (r) of 0.9884 [95%CI:[0.9796-0.9934]]; p<0.0001. By Passing-Bablok procedure, line:  $y=4.1613[95\%CI:{-3.1533 - 8.4688}]+0.9677[95\%CI:{0.9375 - 1.0219}]x$ . K<sup>+</sup>: It gave an r of 0.9989 [95% CI: {0.9980 - 0.9994}]; p<0.0001. By Passing-Bablok procedure, line:  $y=0.3477[95\%CI:{0.2975 - 0.4018}]+0.9362[95\%CI:{0.9213 - 0.9500}]x$ . Cl<sup>-</sup>: It gave an r of 0.9847 [95% CI: {0.9730 - 0.9913}]; p<0.0001. By Passing-Bablok procedure, line:  $y=-0.5702[95\%CI:{-6.3248 - 3.5492}]+1.0268[95\%CI:{0.9545 - 1.0828}]x$ . Conclusion: The comparison of methods showed a satisfactory correlation between the Abbott Architect C4000 and Roche Cobas b221 equipment for the determination of Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup>, confirming that both methods measure in a similar way. For K<sup>+</sup>, future studies should increase the number of data evaluated, seeking for a better correlation, since r is a statistic sensitive to the extremes of the reportable range.

**Keywords:** Documents, comparison, method, equipment, ionogram.

## Introducción

Los electrolitos, como el Na<sup>+</sup> [sodio], K<sup>+</sup> [potasio] y Cl<sup>-</sup> [cloro], poseen un rol de vital importancia y son necesarios para el óptimo funcionamiento de las células y órganos<sup>1</sup>. Las alteraciones de los niveles de electrolitos en sangre constituyen una causa importante de morbilidad y, en algunos casos, de riesgo vital en pacientes críticos. La ausencia de intervenciones correctivas en las etapas tempranas puede dar lugar a escenarios que pongan en peligro la vida del paciente. Evaluar de manera rápida el equilibrio hidroelectrolítico y aplicar un tratamiento adecuado y puntual son elementos fundamentales para revertir esta condición<sup>2</sup>.

En los análisis habituales de laboratorio, la medición de los electrolitos en sangre se ha convertido en un procedimiento fundamental y de vital importancia, ya que tiene una conexión directa con la salud y la vida de un paciente<sup>3</sup>, lo cual está vinculado específicamente con las Unidades de Terapia Intensiva (UTI)<sup>4</sup>.

Durante los años 2020 y 2021, el Hospital Rawson fue un actor central como hospital de referencia para la atención exclusiva de pacientes diagnosticados con SARS CoV-2, razón por la cual se amplió el número de camas en las UTI. Su papel fue fundamental en la lucha contra la pandemia en Córdoba. Por esta razón, este estudio se enfocó específicamente en pacientes afectados por esta enfermedad.

Actualmente, el Servicio de Laboratorio del Hospital Rawson cuenta con dos autoanalizadores para medir ionogramas séricos: el equipo Abbott Architect C4000 y el equipo Roche Cobas b221; ambos equipos utilizan un método de potenciometría con electrodo selectivo para iones [ISE].

La concordancia en los informes de resultados de las muestras cuantificadas en los diferentes equipos para medición empleados en un laboratorio resulta fundamental en el seguimiento y monitoreo que se realiza sobre los pacientes<sup>10</sup>.

El objetivo de este trabajo fue comparar el método potenciométrico indirecto (Abbott Architect C4000) para la cuantificación de los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en pacientes internados en el Hospital Rawson a causa de la infección por SARS CoV-2 con el método potenciométrico directo (Roche Cobas b221).

Para ello, y contemplando el importante impacto que tiene la etapa preanalítica en todo lo vinculado al proceso de medición<sup>5,6,7,8</sup>, es que utilizamos como apoyo determinante todos los documentos y procedimientos desarrollados hasta el presente, los cuales conforman el Sistema Documental (SD) de nuestro Laboratorio, elaborados de acuerdo con los lineamientos de la Norma IRAM ISO 15189:2014 "Laboratorios Clínicos. Requisitos para la calidad y la competencia" e ISO 9001:2015 "Sistema de Gestión de la Calidad. Requisitos"<sup>9,17-20</sup>.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional y prospectivo que incluyó 50 muestras de pacientes internados en la UTI del Hospital Rawson, Córdoba, Argentina, durante el año 2020. La población estudiada consistió en pacientes adultos de ambos sexos, con diagnóstico de infección por SARS-CoV2, confirmado por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa en tiempo real (*rt-PCR*, por sus siglas en inglés, *real time Polymerase Chain Reaction*)<sup>12</sup>.

A los pacientes, se les extrajo sangre por venopunción de acuerdo con el procedimiento operativo titulado "Toma

**Figura 1.** Documentos pertenecientes al Sistema documental del Laboratorio del Hospital Rawson

<p><b>A)</b></p>  <p><b>Laboratorio central</b> <b>Hospital Rawson</b></p> <p><b>Toma de muestra sanguínea</b> <b>CODIGO: PO-TS-01-01</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Código: PO-TS-01-01</th> <th>Revisión: 1</th> <th>Vigencia desde: 23/01/2020</th> <th>Páginas: 14</th> </tr> <tr> <th colspan="2"></th> <th>Nombre</th> <th>Fecha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Elaboración</td> <td colspan="2">Mauricio Labanti, Silvia peralta</td> <td>10/12/2019</td> </tr> <tr> <td>Revisión</td> <td colspan="2">Cesar Collino</td> <td>20/12/2019</td> </tr> <tr> <td>Aprobación</td> <td colspan="2">Aldo Barrera</td> <td>23/01/2020</td> </tr> </tbody> </table>	Código: PO-TS-01-01	Revisión: 1	Vigencia desde: 23/01/2020	Páginas: 14			Nombre	Fecha	Elaboración	Mauricio Labanti, Silvia peralta		10/12/2019	Revisión	Cesar Collino		20/12/2019	Aprobación	Aldo Barrera		23/01/2020	<p><b>B)</b></p>  <p><b>Laboratorio central</b> <b>Hospital Rawson</b></p> <p><b>Utilización de EPP para prácticas de Laboratorio</b> <b>CODIGO: IT-EP-01-01</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Código: IT-EP-01-01</th> <th>Revisión: 1</th> <th>Vigencia desde: 04/04/2020</th> <th>Páginas: 7</th> </tr> <tr> <th colspan="2"></th> <th>Nombre</th> <th>Fecha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Elaboración</td> <td colspan="2">Mauricio Labanti, Sofía Farias</td> <td>05/03/2020</td> </tr> <tr> <td>Revisión</td> <td colspan="2">Cesar Collino</td> <td>20/03/2020</td> </tr> <tr> <td>Aprobación</td> <td colspan="2">Aldo Barrera</td> <td>04/04/2020</td> </tr> </tbody> </table>	Código: IT-EP-01-01	Revisión: 1	Vigencia desde: 04/04/2020	Páginas: 7			Nombre	Fecha	Elaboración	Mauricio Labanti, Sofía Farias		05/03/2020	Revisión	Cesar Collino		20/03/2020	Aprobación	Aldo Barrera		04/04/2020
Código: PO-TS-01-01	Revisión: 1	Vigencia desde: 23/01/2020	Páginas: 14																																						
		Nombre	Fecha																																						
Elaboración	Mauricio Labanti, Silvia peralta		10/12/2019																																						
Revisión	Cesar Collino		20/12/2019																																						
Aprobación	Aldo Barrera		23/01/2020																																						
Código: IT-EP-01-01	Revisión: 1	Vigencia desde: 04/04/2020	Páginas: 7																																						
		Nombre	Fecha																																						
Elaboración	Mauricio Labanti, Sofía Farias		05/03/2020																																						
Revisión	Cesar Collino		20/03/2020																																						
Aprobación	Aldo Barrera		04/04/2020																																						

► A) Procedimiento operativo "Toma de muestra sanguínea" (código: PO-TS-01-01).

► B) Instructivo "Utilización de EPP para prácticas de Laboratorio" (IT-TS-01-01).

**Tabla I.** Distribución de los datos sugeridos para la comparación de métodos. Protocolo CLSI EP09-A2

Determinación	Grupo A		Grupo B		Grupo C		Grupo D		Grupo E	
	Rango	%	Rango	%	Rango	%	Rango	%	Rango	%
Sodio (mmol/L)	120-130	20	-	-	131-140	40	141-150	30	151-160	10
Cloro (mmol/L)	80-95	30	95-105	40	105-120	30	-	-	-	-
Potasio (mmol/L)	<3,0	20	3-4,5	35%	4,5-6,0	35%	>6	10	-	-

► Grupo A: Rango de concentración para los analitos: sodio (120 mmol/L a 130 mmol/L), cloro (80 mmol/L a 95 mmol/L) y potasio (<3 mmol/L). Grupo B: Rango de concentración para los analitos: cloro (90 mmol/L a 105 mmol/L) y potasio (3 mmol/L a 4,5 mmol/L). Grupo C: Rango de concentración para los analitos: sodio (131 mmol/L a 140 mmol/L), cloro (105 mmol/L a 120 mmol/L) y Potasio (4,5 mmol/L a 6,0 mmol/L). Grupo D: Rango de concentración para los analitos: sodio (141 mmol/L a 150 mmol/L) y potasio (>6 mmol/L). Grupo E: Rango de concentración para los analitos: sodio (151 mmol/L a 160 mmol/L).

de muestra sanguínea" [código: PO-TS-01-01] y respetando las acciones indicadas en el instructivo de trabajo "Utilización de EPP para prácticas de Laboratorio" [IT-TS-01-01], ambos documentos pertenecientes al SD de nuestro laboratorio (Figura 1)<sup>17,18</sup>. Las muestras fueron recolectadas en tubos con activador de la coagulación y gel separador; luego, se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos y fueron conservadas hasta el momento de la valoración.

Estas mediciones de los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> se realizaron por dos metodologías diferentes: método potenciométrico indirecto (Abbott Architect c4000) y método potenciométrico directo (Roche Cobas b221). Se llevó a cabo una selección adecuada de las muestras en cuanto a la integridad de las mismas; en este sentido, las muestras hemolizadas no fueron procesadas<sup>13</sup>. Las mismas se evaluaron en el rango reportable abarcando los niveles de decisión médica, extendiéndose hacia el límite inferior y superior del rango de ensayo reportado por el fabricante, para lo cual nos basamos en el protocolo EP09-A2 "Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples" del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), Tabla I<sup>14</sup>.

Para comprender la naturaleza de los datos recopilados, llevamos a cabo un análisis exhaustivo de su distribución basándonos en el test de D'Agostino-Pearson, utilizando el programa MedCalc®. Los resultados de nuestro análisis revelan que los datos exhiben una distribución normal.

Para el análisis estadístico de los datos, se realizó una

comparación mediante el coeficiente de correlación de Pearson, evaluando la fuerza de asociación lineal a través del estadístico "r"; también se realizó un análisis de regresión de Passing-Bablok y, finalmente, se evaluó la concordancia entre las dos metodologías de medición mediante el método de Bland-Altman. Se utilizó el programa MedCalc®.

Además de la evaluación analítica de desempeño que debe realizarse sobre cada método, resulta imprescindible el desarrollo de un SD que soporte, evalúe y sostenga todos los procedimientos y acciones que se realizan en el laboratorio<sup>11</sup>. De esta manera, las decisiones que se tomen estarán fundamentadas en un sistema sólido y eficaz, con evidencia objetiva y trazable y permitirán la oportunidad de aplicar acciones correctas a desarrollar en cada paso.

## Resultados

Los resultados de media, mediana, desvío estándar, concentración mayor y concentración menor para los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> se presentan en la Tabla II.

En la Tabla III, se detallan los resultados obtenidos mediante el procedimiento no paramétrico de Passing-Bablok.

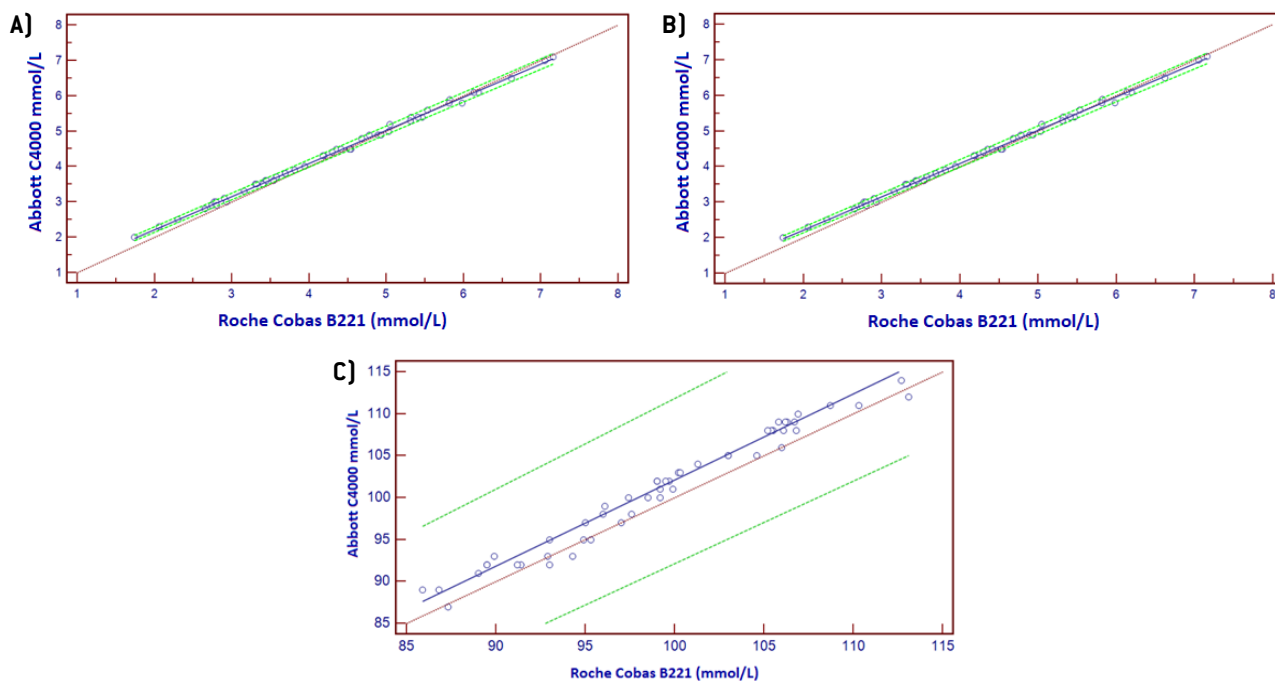
La Figura 2 muestra la recta de regresión obtenida por Passing-Bablok para los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>.

Para analizar la correlación entre los resultados obtenidos por los analizadores Cobas b221 y Abbott c400, se calculó el coeficiente de correlación lineal de Pearson (Tabla IV), y se utilizó el método de Bland-Altman para representar

**Tabla II.** Resultados obtenidos por ambas metodologías para los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>

	Sodio		Potasio		Cloro	
	Cobas b221	Abbott c4000	Cobas b221	Abbott c4000	Cobas b221	Abbott c4000
Concentración Menor (mmol/L)	120,5	124	1,74	2	85,9	87
Concentración Mayor (mmol/L)	155,9	155	7,16	7,1	113,1	114
Media (mmol/L)	138,4	138,3	4,3	4,38	99,2	100,9
Mediana (mmol/L)	138,8	138	4,32	4,45	99,2	101,5
Desvío Estándar (mmol/L)	8,54	8,27	1,31	1,22	6,97	7,16
Error Estándar de la media (mmol/L)	1,21	1,17	0,18	0,17	0,98	1,01

**Figura 2.** Recta de regresión obtenida por Passing-Bablok para los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>



► En el eje “x”, se representan las concentraciones de los analitos: sodio (grafico A), potasio (grafico B) y cloro (grafico C), medidas por el autoanalizador Cobas b221, y, en el eje “y”, las medidas por el autoanalizador Abbott c4000. Se muestran la recta de regresión (línea sólida color azul) e intervalo de confianza del 95% (punteado color verde alrededor de la recta de regresión). La recta punteada central de color bordó corresponde a la recta con ordenada 0 y pendiente 1.

la concordancia entre los resultados obtenidos por los analizadores Abbott Architect C4000 y Roche Cobas b221 para las diferentes variables estudiadas (Figura 3).

**Discusión**

La comparación de métodos realizada arrojó índices de correlación satisfactorios entre los equipos Abbott Architect C4000 y Roche Cobas b221 en la cuantificación de los analitos Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>.

La Figura 2 evidencia la ausencia de tendencias con respecto a las diferencias calculadas entre los equipos. Se observa una distribución aleatoria de los valores alrededor del valor medio establecido de las diferencias. Los intervalos de

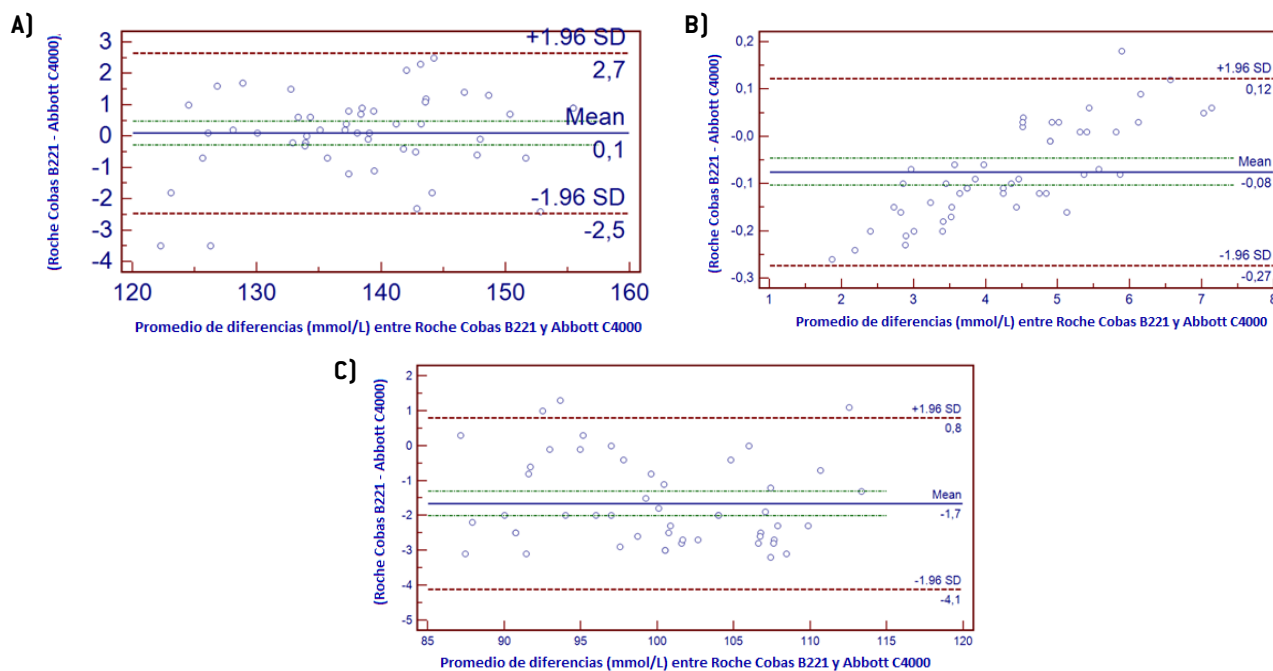
confianza (IC) 95% establecidos para la pendiente y ordenada al origen, para ambos analitos (Tabla 2), muestran que el valor 1 y 0 se encuentran contenidos, respectivamente, en cada IC, arrojando un coeficiente de correlación de Pearson para el Na<sup>+</sup> de 0,9884 y de 0,9847 para el Cl<sup>-</sup>; con base en estos resultados podemos afirmar que ambos métodos miden de forma comparable.

Para el analito K<sup>+</sup>, se observa una fuerte tendencia de las diferencias entre los resultados del Abbott Architect C4000 y Roche Cobas b221 (Figura 3), puesto que, en concentraciones bajas de este analito, el autoanalizador Roche Cobas b221 informa valores menores que el autoanalizador Abbott Architect C4000 y, en concentraciones altas de este analito,

**Tabla III.** Ecuación de la recta obtenida mediante el procedimiento no paramétrico de Passing-Bablok para los analitos Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>

Regresión de Passing-Bablok			
	Sodio	Potasio	Cloro
Ecuacion de la recta (mmol/L)	y = 4,1613 + 0,9677 x	y = 0,3477 + 0,9362 x	y = -0,5702 + 1,0268 x
intersección A (mmol/L)	4,1613	0,3477	-0.5702
Intervalo de confianza 95% (mmol/L)	-3,1533 a 8,4688	0,2975 a 0,4018	-6,3248 a 3,5492
Pendiente B (mmol/L)	0,9677	0,9362	1,0268
Intervalo de confianza 95% (mmol/L)	0,9375 a 1,0219	0,9213 a 0,9500	0,9845 a 1,0828

**Figura 3.** Gráfico de Bland-Altman: representa la relación entre las diferencias de las concentraciones de los analitos  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Cl}^-$  medidos por ambos métodos



► En el eje "y", se grafican las diferencias entre las concentraciones de los analitos sodio (Grafico A), potasio (Grafico B) y cloro (Grafico C) entre el autoanalizador Cobas b221 y Abbott c4000. En el eje "x", se representa el promedio de las concentraciones medidas por ambos métodos. La línea azul central representa la diferencia de medias entre ambos métodos. Las líneas verdes horizontales, segmentadas, representan los IC del bias medio o ES obtenido. Las líneas horizontales bordó, segmentadas representan  $\pm 1,96$  DS.

este equipo provee valores mayores que el autoanalizador Abbott Architect C4000. En la Figura 3, se observa un *bias* sistemático proporcional, dependiente de la concentración de este analito, con una tendencia positiva de las diferencias conforme aumenta la magnitud de la variable medida. Si bien el coeficiente de correlación de Pearson arrojó un valor de 0,9989, el IC 95% establecido para pendiente y ordenada al origen [Tabla 2] no contiene los valores 1 y 0, respectivamente. Con base en estos resultados sugerimos que sería interesante realizar más estudios incrementando la cantidad de muestras cuantificadas dentro del rango reportable de medición, lo cual impactaría en la variación del comportamiento del estadístico "r".

En trabajos similares de comparación de métodos para la determinación de ionograma sérico, los autores Yilmaz S, Uysal y Yasemin U Budak señalan que los resultados obtenidos no fueron equivalentes y, por lo tanto, ambos equipos

no pueden utilizarse indistintamente para informar ionograma sérico<sup>15,16</sup>.

En este estudio, se realizó una selección adecuada de las muestras contemplando el rango de concentraciones que incluyen los niveles de decisión médica para cada analito en estudio; además, en este sentido, se extendió este rango hacia el límite inferior y superior de los mismos, en virtud de brindarle mayor robustez a este ensayo. Igualmente, es necesario mencionar que los resultados podrían estar influenciados por el bajo número de muestras analizadas (N=50), por lo que recomendamos realizar investigaciones futuras con la finalidad de consolidar nuestras observaciones.

### Conclusión

Este estudio comparativo entre los equipos Roche Cobas b221 y Abbott Architect C4000 revela índices de correlación satisfactorios para los analitos  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  lo cual indica una

**Tabla IV.** Resultados obtenidos mediante el análisis de correlación de Pearson

	Coeficiente de correlación de Pearson (r)		
	Sodio	Potasio	Cloro
Correlation coefficient r	0,9884	0,9989	0,9847
Nivel de significancia	P<0,0001	P<0,0001	P<0,0001
Intervalo de confianza 95%	0,9796 a 0,9934	0,9980 a 0,9994	0,9730 a 0,9913

comparabilidad en sus mediciones. Sin embargo, se identificó una tendencia significativa en las diferencias de los resultados para el analito K<sup>+</sup>, lo que sugiere la necesidad de investigaciones adicionales para comprender mejor esta disparidad, especialmente, a través de un mayor número de muestras en el rango reportable de medición.

A pesar de los esfuerzos realizados, la limitación en el número de muestras analizadas destaca la importancia de futuras investigaciones para validar y consolidar las observaciones realizadas en este estudio. En este contexto, se recomienda precaución al considerar la intercambiabilidad de estos equipos en la práctica clínica hasta que se realicen estudios adicionales que aborden estas preocupaciones.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Antwi-Boasiako C, Kusi-Mensah YA, Hayfron-Benjamin C, Aryee R, Dankwah GB, Abia KL, et al. Serum Potassium, Sodium, and Chloride Levels in Sickle Cell Disease Patients and Healthy Controls: A Case-Control Study at Korle-Bu Teaching Hospital, Accra. *Biomark Insights*. 2019;14:1-5, <https://doi.org/10.1177/1177271919873889>
- Ceballos-Guerrero M, De la Cal Ramírez MA, Fernández-Cañadas Sánchez JM. Alteraciones de los electrolitos en urgencias: Fisiopatología clínica, diagnóstico y tratamiento. [Internet] [número de edición ej. 6ta] [Vol.1]. España. Semes Andalucía. Disponible en: <https://www.semesandalucia.es/wp-content/uploads/2014/07/electrolitos-en-urgencias.pdf>
- Alvarado V, Peñaloza L. Determinación de la sensibilidad y especificidad de diferentes métodos para el análisis de sodio y potasio en suero humano. *Cuad. Hosp. Clín*. 2006;51(1):19-26.
- Esquivel MCG, Ayala LJP, Rivera TJA, Velasco RVM, Hernández GO, Castillo RCE. Medición de sodio, potasio, calcio y glucosa en suero-plasma y hemoglobina-hematócrito. *Med Int Mex*. 2005;21(5): 339-346.
- Plebani M, Caputo M, Giavarina D, Lippi G. Note metodologiche sull'acquisizione e sull'uso dei sistemi chiusi sottovuoto per il prelievo, il trattamento e la conservazione dei campioni ematici venosi destinati alla diagnostica di laboratorio. *BC*. 2013;37(4):303-311.
- Plebani M, Panteghini M. Armonizzazione in laboratorio: verso una visione global. *BC*. 2015;1(39):12-14.
- Etcheverry G, Domínguez M, Espósito N, Mayon P, Morales M, Roselli M, et al. Auditoría clínica: una herramienta para el seguimiento de errores preanalíticos en el laboratorio. *Acta. Bioquím Clín Latinoam*. 2007; 41(1):51-56.
- Sancesario G, Perrone M, Pellegrini C, Aita A, Dabla P, Fares Taie S, et al. *Laboratory Medicine: specialists of tomorrow*. *BC*. 2019;43(4):424-434.
- Gómez-Sanz JE, Gallego-Gavela V, Simón-Sacristán M, Mateo-Maestre M, Jiménez-Garofano MC, Virseda-Chamorro I. Estrategias para la implantación de un sistema de gestión de la calidad en los laboratorios clínicos del Hospital Central de la Defensa Gómez Ulla. *Sanid. Mil*. 2020;76(4):245-253, <https://doi.org/10.4321/s1887-85712020000400007>
- Perez-Bertel L, Funez F, Fernández D, De Jesús J, Castro C, Badía M, et al. Comparación de equipos para la determinación de ionograma (sodio, potasio, cloruro) en sangre. *ByPC*. 2021;85(1):26-30.
- Pacheco A, Zamory S, Collino C. Impacto de la implementación de un sistema documental en el aseguramiento de la calidad en un laboratorio de análisis clínicos de un hospital público. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2019;53(4):511-524.
- Hernández-Pérez M, Martín-González E, Pino-Yanes M. Strengths and weakness of diagnostic tests of SARS CoV-2 infection. *Med Clin (Barc)*. 2020;155(10):463-446, <https://doi.org/10.1016/j.med-clin.2020.05.019>
- Saldaña O, Ítalo M. Interferencia causada por hemólisis en la determinación de 25 constituyentes bioquímicos en el autoanalizador ADVIA 1800. *An. Fac. med*. 2015;76(4):377-384.
- Krouwer J, Tholen D, Garber M, Goldschmidt H, Harris-Kroll M, Linnet K. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. *NCCLS*. 2002; 19(22):21-22.
- Yilmaz S, Uysal H, Avcil M, Yilmaz M, Dağlı B, Bakış M, et al. Comparison of different methods for measurement of electrolytes in patients admitted to the intensive care unit. *Saudi Med J*. 2016;37(3):262-7, <https://doi.org/10.15537/smj.2016.3.13539>
- Budak Y, Huysal K, Polat M. Use of a blood gas analyzer and a laboratory autoanalyzer in routine practice to measure electrolytes in intensive care unit patients. *BMC Anesthesiol*. 2012; 17(2012):4-6. Doi: 10.1186/1471-2253-12-17.
- Labanti M, Collino C, Sofia F, Barrera A. Laboratorio Hospital Rawson. Toma de muestra sanguínea. Procedimiento Operativo. 2020. código: PO-TS-01-01.
- Labanti M, Collino C, Peralta S, Barrera A. Laboratorio Hospital Rawson. Utilización de EPP para prácticas de Laboratorio. Instructivo de Trabajo 2020 código: IT-TS-01-01.
- Organización Internacional de Normalización. Laboratorios Clínicos. Requisitos para la calidad y la competencia. NM ISO 15189: 2014. Argentina.
- Organización Internacional de Normalización. Sistemas de gestión de la calidad. Requisitos. ISO 9001: 2015. Argentina.



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercia- Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Evaluación de estrategias para la gestión de calidad en laboratorios clínicos: análisis de modo y efecto de fallo e indicador *Budget Error*

*Assessment of Quality Management Strategies in Clinical Laboratories:*

*Analysis of Failure Mode and Effect and the 'Budget Error' Indicator.*

Gimenez, José María<sup>1\*</sup>; Bonetto, Ayelén<sup>1</sup>; Abiega, Claudio<sup>1</sup>; Lujan, Pablo Rodrigo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hospital Privado Universitario de Córdoba. Córdoba, Argentina.

\*Contacto: Gimenez, José María. Laboratorio Central, Departamento de Calidad y Seguridad del Paciente, Hospital Privado Universitario de Córdoba, Naciones Unidas 346. [C.P5000]. Córdoba, Argentina; pp\_8829@hotmail.com.

## Resumen

Introducción: En los laboratorios clínicos, la precisión y exactitud de los resultados son cruciales para la toma de decisiones médicas, dado que influyen directamente en la seguridad del paciente (SP) asegurando resultados confiables y mejorando la atención en salud. Objetivo: Evaluar el uso dentro del sistema de gestión de calidad (SGC), del análisis de modo y efecto de fallo (AMEF) y el indicador *Budget Error* (BE) para mejorar la calidad y la SP en el Laboratorio del Hospital Privado Universitario de Córdoba (HPUC). Materiales y Métodos: Se llevó a cabo un estudio observacional y analítico en el Laboratorio del HPUC durante los años 2021 y 2022, dividido en dos partes. La primera aplicó el AMEF para categorizar el riesgo de métodos analíticos y planificar la evaluación del desempeño. La segunda parte evaluó el BE para detectar y corregir errores en 11 analitos seleccionados. Resultados: En 2021, el AMEF determinó una evaluación cuatrimestral para glucosa, creatinina, bilirrubina, ionograma, magnesio y ácido láctico. En 2022, se generaron 132 resultados del índice de error total mediante RIQAS, y se identificaron 9 acciones preventivas y 1 correctiva basadas en el BE, en comparación con una sola mejora detectada por el ensayo de aptitud. Discusión: La integración del AMEF y el indicador BE, junto con otras herramientas de calidad, es esencial para gestionar el riesgo, optimizar recursos y mejorar el desempeño de métodos en laboratorios clínicos. Esta combinación promueve una conducta proactiva, impulsa una cultura de calidad y facilita la mejora continua en la práctica analítica. **Palabras claves:** laboratorios clínicos, gestión de la calidad, seguridad del paciente, evaluación de riesgos, indicadores de gestión de calidad en salud.

## Abstract

Introduction: In clinical laboratories, the precision and accuracy of results are crucial for medical decision-making, directly influencing patient safety. Implementing a quality management system ensures reliable results and improves healthcare. Objectives: To evaluate the use of "Failure Mode and Effects Analysis" (FMEA) and the "Budget Error" (BE) indicator within the quality management system to improve quality and patient safety at the Laboratory of the Private University Hospital of Córdoba (HPUC), Argentina. Materials and Methods: Observational and analytical study at the HPUC Laboratory during 2021 and 2022, divided into two parts. The first part applied FMEA to categorize the risk of analytical methods and plan performance evaluation. The second part evaluated the BE to detect and correct errors in 11 selected analytes. Results: In 2021, the FMEA determined a quarterly assessment for glucose, creatinine, bilirubin, ionogram, magnesium, and lactate. In 2022, 132 Total Error Index results were generated through RIQAS, identifying nine preventive actions and one corrective action based on the BE, compared to a single improvement detected by the proficiency testing. Discussion: The integration of FMEA and the BE indicator, along with other quality tools, is essential to manage risk, optimize resources, and improve the performance of methods in clinical laboratories. This combination promotes proactive behavior, fosters a culture of quality, and facilitates continuous improvement in analytical practice. **Keywords:** Clinical Laboratories, Quality Management, Patient Safety, Risk Assessment, Health Quality Management Indicators.

## Introducción

En el ámbito de los laboratorios clínicos, la generación de resultados con alto grado de validez se ha vuelto esencial para respaldar una toma de decisiones médicas precisa, necesaria tanto para el diagnóstico como para el pronóstico y tratamiento adecuado de los pacientes<sup>1</sup>. Se ha destacado que aproximadamente el 70 % de las decisiones médicas se basa en los resultados proporcionados por los laboratorios. Por lo tanto, garantizar la calidad de estos resultados es una prioridad, ya que cualquier deficiencia podría afectar directamente la seguridad de los pacientes [SP]<sup>2</sup>.

Para lograr esta calidad sin comprometer la SP, es necesario implementar un sistema de gestión de calidad (SGC). Este sistema comprende un conjunto de políticas, procesos y procedimientos diseñados para planificar y ejecutar las funciones esenciales de una organización de manera eficiente y efectiva. Integra diversas estrategias y herramientas de calidad, como el análisis de modo y efecto de fallo (AMEF), indicadores de efectividad, diagramas de Pareto, diagramas de Gantt y otros instrumentos de mejora y gestión del desempeño<sup>3,4</sup>.

El SGC no solo se centra en mantener la calidad de los procesos de laboratorio, sino también en la gestión de riesgos y la mejora continua de todos los aspectos que influyen en la calidad del servicio. Su objetivo principal es identificar y evaluar posibles peligros o fallos que puedan afectar el proceso de atención médica, implementando medidas para minimizar el riesgo de eventos adversos<sup>5</sup>. En este sentido, el uso de indicadores de calidad resulta esencial dentro del SGC, ya que permite evaluar y monitorear de forma continua la implementación de estas estrategias y del mismo sistema<sup>6</sup>.

En este contexto, los procesos se refieren a las etapas o fases dentro del laboratorio clínico (preanalítica, analítica y posanalítica), las cuales son cruciales para la generación de resultados precisos y confiables. Este trabajo se enfoca específicamente en la etapa del proceso analítico, ya que, a pesar de representar solo el 15 % de los errores, es parte crítica y causa más del 50 % de los EA eventos adversos dentro del ciclo de atención médica<sup>7</sup>. Por lo tanto, es esencial la implementación de estrategias de gestión de calidad y riesgo en esta fase, para reducir el riesgo de errores clínicamente significativos de manera oportuna<sup>8,9</sup>.

Generalmente, los laboratorios utilizan la evaluación inicial de métodos y planes de control de calidad tanto interno (CCI) como externo (CCE) para controlar y monitorear el desempeño en la etapa analítica. Sin embargo, estas herramientas pueden resultar insuficientes para garantizar la SP y evitar de antemano un impacto negativo

La evaluación del desempeño de métodos y el CCI, en conformidad con los protocolos existentes, proporcionan evidencia objetiva del cumplimiento de los requisitos definidos en la norma ISO 15189: 2014<sup>4</sup>. Esto permite verificar el impacto deseado en la SP garantizando que los métodos utilizados en el laboratorio siguen siendo precisos y confiables a lo largo del tiempo.

La planificación periódica de la evaluación de desempeño del método, basada en protocolos específicos establecidos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), es crucial para identificar diversas fuentes de error analítico, incluso aquellas no

contempladas en los planes rutinarios de CCI. Esta planificación estratégica no solo demuestra competencia técnica y desempeño aceptable, sino que también contribuye a la gestión de riesgo y a la tecnovigilancia para el aseguramiento de calidad en los laboratorios<sup>10,11</sup>.

Este trabajo, en una primera parte, se enfoca en la evaluación e integración del AMEF, en conjunto con otras herramientas estratégicas como el diagrama de Pareto y el diagrama de Gantt, para categorizar el riesgo y definir la periodicidad de evaluación del desempeño aplicado a los procedimientos de medida de cada analito de química clínica involucrado en la prestación de servicio. Esta estrategia permite no solo comprender las posibles causas y el riesgo de error en los informes de resultados de pacientes, sino que también contribuye, junto con el CCI, a la elaboración de planes de mejora centrados en estos aspectos<sup>9,12,13</sup>. Ambos enfoques son fundamentales para lograr una mejora continua y una gestión de riesgos efectiva en los laboratorios.

Por otra parte, el CCE desempeña un papel crucial al permitir que los laboratorios individuales comparen su desempeño con el de otros laboratorios que analizan las mismas muestras de control. Esto facilita la estimación del sesgo y la inexactitud, lo cual resulta esencial para identificar deficiencias en los equipos y procedimientos de medida a largo plazo<sup>14,15</sup>. En el contexto de la norma ISO 15189<sup>4</sup>, que promueve la adopción de SGC orientados a la mejora continua, se enfatiza la importancia de establecer indicadores de calidad y llevar a cabo estas comparaciones conocidas como *ensayos de aptitud*, lo que les proporcionará a los laboratorios la evidencia necesaria para determinar la aceptabilidad de los resultados. Los indicadores de calidad derivados del programa externo son considerados prioritarios y obligatorios en este contexto, ya que la información que proporcionan es fundamental para la realización de actividades de mejora que fortalezcan y consoliden los SGC<sup>16</sup>. Cada laboratorio, al interpretar su desempeño y los datos obtenidos a través de los indicadores de calidad, puede implementar acciones correctivas y preventivas que contribuyan a la mejora continua y a la SP.

En una segunda instancia, este trabajo emplea el índice de error total generado mediante RIQAS como un indicador de efectividad clínica denominado *Budget Error* [BE].

A diferencia de los indicadores convencionales proporcionados por los ensayos de aptitud, BE adopta un enfoque proactivo de gestión de riesgos y establece estándares de calidad más estrictos que reflejan un nivel superior de exactitud en la evaluación del desempeño relacionado con errores sistemáticos.

Esto permite tomar medidas preventivas e incluso correctivas antes de obtener resultados *no conformes* en los controles de calidad externos, los cuales podrían indicar riesgos para la seguridad de los pacientes. Así, se optimiza el uso de recursos y se fomenta la mejora continua y la gestión de riesgos en la atención médica.

El objetivo fue evaluar el uso del análisis de modo y efecto de fallo y el indicador de efectividad *Budget Error* como estrategias para mejorar la calidad y la SP en el Laboratorio del Hospital Privado Universitario de Córdoba (HPUC) durante los años 2021 y 2022.

**Tabla I.** Información de los analitos estudiados.

Analito	Reactivo - Fabricante	Método	Unidades
Ácido úrico	UA2 - Roche	<i>Uricase Peroxidase. with ascorbic. Oxidasa 546nm</i>	mg/dL
Urea	UREAL - Roche	Ureasa cinética	mg/dL
Glucosa	GLUC3 - Roche	Hexoquinasa	mg/dL
Colesterol	CHOL2 - Roche	<i>Cholesterol oxidasa</i>	mg/dL
HDL	HDL4 - Roche	Ensayo de 4 generación	mg/dL
LDL	LDLC3 - Roche	<i>Selective detergents methods</i>	mg/dL
Creatinina	CREJ2 - Roche	<i>Alkaline picrate no deproteinisation</i>	mg/dL
PT	TP2 - Roche	Reacción de Biuret, punto final	g/dL
Triglicéridos	TRIGL - Roche	<i>Lipase/GPO-PAP no correction</i>	mg/dL
Hierro [Fe]	IRON2 - Roche	<i>Colorimetric without ppt</i>	ug/dL
Bilirrubina	BILD2/BILT3 - Roche	<i>Dichlorophenyl Diazonium / Diazo with Sulphanilic Acid</i>	mg/dL
Sodio [Na]	<i>ISE Internal Standard/ ISE Diluent gen.2/ ISE Reference Electrolyte – Roche</i>	<i>Ise Indirect</i>	mmol/L
Potasio [K]	<i>ISE Internal Standard/ ISE Diluent gen.2/ISE Reference Electrolyte – Roche</i>	<i>Ise Indirect</i>	mmol/L
Cloro [Cl]	<i>ISE Internal Standard/ ISE Diluent gen.2/ISE Reference Electrolyte – Roche</i>	<i>Ise Indirect</i>	mmol/L
Calcio [Ca]	CA2 - Roche	NM-BAPTA	mg/dL
Magnesio [Mg]	MG2 - Roche	<i>Xylidyl Blue</i>	mmol/L
Fósforo [P]	PHOS2 - Roche	<i>Phosphomolybdate UV</i>	mg/dL
GPT	ALTL - Roche	<i>Tris buffer without P5P</i>	U/L
GOT	ASTL - Roche	<i>Tris buffer without P5P</i>	U/L
GGT	GGT-2 - Roche	<i>Gamma glut. -3-carb. -4-nitro.</i>	U/L
FAL	ALP2L - Roche	<i>AMP buffer IFCC</i>	U/L
LDH	LDHI2 - Roche	Lactate to Pyruvate IFCC	U/L
CK	CK - Roche	CK-NAC [IFCC]	U/L
Amilasa [Amy]	AMYL2 - Roche	pNPG7	U/L
Lipasa	LIPC - Roche	Colorimétrico	U/L
Ácido láctico	LACT2 - Roche	Colorimétrico lactato oxidasa	mmol/L

► HDL, lipoproteína de alta densidad; LDL; lipoproteína de baja densidad; PT, proteínas totales; GPT, transaminasa glutámico-pirúvica; GOT, transaminasa glutámico-oxalacética; GGT, gama-glutamyl transferasa; FAL, fosfatasa alcalina; LDH, lactato deshidrogenasa; CK, creatina quinasa.

**Tabla II.** Escala de priorización de riesgo para la puntuación de cada modo de fallo de los analitos o procedimientos de medida.

Escala	Nivel de prioridad por urgencia / vulnerabilidad	Decisión médica / riesgo clínico	Volumen de demanda	Historial de fallos
5	Si es parámetro de UTIP/ UTI/ Qx o materno-neonatal de impacto marcado	Si es parámetro único de diagnóstico	Si es parámetro de alta demanda (>1000)	Calificación si hay problemas de desempeño todos los meses
3	Si es parámetro de urgencia	Si es parámetro de grupo vulnerable de impacto	Si es parámetro de moderada demanda [101-1000]	Calificación si hay problemas de desempeño cada 2 meses
1	Si es parámetro de rutina / consulta externa	Si es parámetro de perfil	Si es parámetro de baja demanda (<100)	Calificación si eventualmente hay problemas de desempeño al semestre o ninguno

► UTIP, Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica; UTI, Unidad de Terapia Intensiva de Adultos; Qx, Quirófano.

► Para el modo de fallo volumen de demanda, la escala para la puntuación corresponde al promedio del volumen de demanda mensual.

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio observacional y analítico de seguimiento. Se evaluó el uso del AMEF y del indicador de efectividad clínica BE como estrategias en la gestión de riesgos proactivos para la calidad y la SP en el Laboratorio del Hospital Privado Universitario de Córdoba (HPUC) durante los años 2021 y 2022.

### Primera parte - Evaluación de la matriz de riesgo AMEF para la planificación periódica de la evaluación del desempeño de métodos de los analitos de química clínica (Año 2021)

La muestra de estudio, en esta primera parte, comprende los procedimientos de medida involucrados en la prestación de servicio, detallados en la Tabla I.

### Recolección y automatización de datos

Se utilizó el *software* de hojas de cálculo de Microsoft Ex-

cel para recopilar y automatizar datos. Además, se accedió al historial de fallos incluyendo las no conformidades resultantes del CCE así como recalibraciones previas.

### Evaluación del riesgo

Se aplicó la metodología AMEF para evaluar y puntuar cuatro atributos clave de cada procedimiento de medida. Los atributos se estratificaron con base en su urgencia/vulnerabilidad, riesgo clínico, historial de fallos y promedio mensual del volumen de demanda. Para el historial de fallos, se consideró como recalibración toda aquella calibración que no fue programada en su plan correspondiente. Para el promedio mensual del volumen de demanda, se aplicó el diagrama de Pareto expuesto en la Figura 1 como una herramienta más de la gestión de calidad para dar a conocer el impacto de este modo de fallo en los resultados de laboratorio.

**Tabla III.** Categorización del riesgo y acción preventiva según número de priorización (NPR) para la determinación de la periodicidad de la evaluación del desempeño de métodos.

Riesgo	Escala de RPN	Acción preventiva
Alto	125-625	Evaluación del desempeño de métodos de forma cuatrimestral
Moderado	75-124	Evaluación del desempeño de métodos de forma semestral
Tolerable	<75	Continuar con el monitoreo hasta próximo AMEF (anual)

► Para aquellos procedimientos de medida cuyo nivel de riesgo es definido como tolerable según el cálculo del NPR, la acción preventiva es seguir con el monitoreo correspondiente al CCI hasta próximo año.

Los atributos *nivel de prioridad por urgencia/vulnerabilidad y riesgo clínico*, se definieron por consenso de nueve bioquímicos especialistas y un médico especialista en Clínica Médica, tras la aplicación de la “tormenta de ideas” y grupo nominal.

### Priorización de riesgos

Para cada analito de química clínica, se calculó un índice de priorización de riesgo (*Risk Priority Number*, RPN) multiplicando las puntuaciones correspondientes de los cuatro atributos. Estas puntuaciones se definieron según evaluación del riesgo y escala de priorización de riesgo basada en el modo de fallo, detallada en la Tabla II.

### Categorización del riesgo

Comparando el RPN obtenido con la información proporcionada en la Tabla III, se categorizó el riesgo de cada analito de química clínica en uno de tres niveles: tolerable, moderado o alto.

### Acciones preventivas

Se determinaron según el nivel de riesgo obtenido para cada procedimiento de medida, utilizando la Tabla III como referencia. Estas acciones están diseñadas para reflejar la periodicidad de la evaluación del desempeño del método que se realiza de manera específica para cada analito de química clínica. La frecuencia de evaluación según categorización del riesgo se basa en la identificación proactiva de posibles fuentes de error y tiene como propósito reducir la probabilidad de que ocurran problemas antes de que se manifiesten.

### Planificación periódica

Para la planificación periódica de la evaluación de desempeño del método según categorización de riesgo resultante para cada analito de química clínica, se usó el programa Visio de Microsoft Office para la construcción del diagrama de Gantt.

**Tabla IV.** Construcción del indicador (ficha técnica): nombre, justificación, dominio, dimensión, definición operacional, variables y consideraciones para el análisis

#### CONSTRUCCIÓN DEL INDICADOR

Nombre	Índice de error total ( <i>Budget Error</i> )		
Justificación	Evaluar la efectividad clínica de los resultados procesados y emitidos por el área de química clínica a partir de ensayos de aptitud (por medio de la ponderación del sesgo como índice de error total)		
Dominio	Efectividad clínica		
Dimensión	Estructura	Proceso	Resultado

#### DEFINICIÓN OPERACIONAL

Numerador	SDI Obtenido
Denominador	Umbral o límite aceptado por programa de evaluación externa
Unidad de Medición	SDI
Factor	100
Fórmula del cálculo	Numerador sobre denominador por el factor

#### CONSIDERACIONES PARA EL ANÁLISIS Y VARIABLES

Origen de la información	Proceso analítico del área de química clínica y evaluación externa RIQAS
Frecuencia de emisión y remisión	Mensual
Responsable	Dueño de proceso de calidad analítica
Usuario	Analista del área y/o coordinador de calidad
Criterio de aceptabilidad del programa externo	RIQAS considera cumplimiento para un SDI menor o igual a 2.

► SDI, índice de desvío estándar o Z-Score.

► En verde, se señala la clasificación correspondiente a la “dimensión” del indicador.

**Tabla V:** Meta y criterios para la evaluación del índice o indicador de efectividad clínica *Budget Error*

Resultado <i>Budget Error</i>	Acciones que tomar
$Budget Error < 50\%$	No requiere intervención.
$50\% \geq Budget Error \leq 70\%$	Inicie acciones preventivas para detectar fuentes de error sistemático.
$70\% > Budget Error \leq 100\%$	Inicie acciones de tipo correctivo, ya que su margen de seguridad ha disminuido.

► Meta: Garantizar que el índice de error total *Budget Error* sea menor o igual al 70%, criterio establecido donde no se requiere la toma de acciones correctivas.

### Alcance de la evaluación del desempeño de métodos según planificación periódica

La evaluación del desempeño del método se lleva a cabo conforme con los protocolos establecidos por la CLSI, abordando aspectos clave de evaluación para cada parámetro analítico. Este proceso se aplica, según periodicidad correspondiente, a todos los procedimientos de medida de química clínica para asegurar la calidad y confiabilidad de los resultados analíticos.

### Criterios de aceptación

Los criterios de aceptación se establecen de acuerdo con los protocolos de la CLSI y se ajustan según el parámetro analítico evaluado. Estos criterios abarcan aspectos como la verificación de precisión, linealidad, comparación de métodos y estimación del sesgo. Los requisitos de calidad se determinan considerando tanto la variabilidad biológica como las normativas del estado del arte para cada parámetro específico.

### Criterios de rechazo

Si los resultados de la evaluación del desempeño del método no cumplen con los requisitos de calidad o los protocolos de la CLSI para cada parámetro analítico, se aplican planes de acción de mejora de tipo correctivo.

### Segunda Parte - Evaluación del indicador de efectividad clínica (Año 2022)

#### Población de estudio

En la segunda parte del estudio, se monitorearon mensualmente 11 procedimientos de medida, del total de los 26 que detalla la Tabla I, seleccionados con base en la necesidad clínica asistencial y la categorización del riesgo establecida mediante el AMEF aplicado para el año 2021. Los 11 AQC involucrados en este monitoreo de métodos son: urea, glucosa, creatinina, bilirrubina, sodio, potasio, magnesio, GPT, GOT, amilasa y ácido láctico.

#### Determinación del índice de error total (*Budget Error*, BE)

Para evaluar el desempeño de estos procedimientos de medida, en un nivel más riguroso de exactitud, se calculó mensualmente el índice de error total. Se utilizó el indicador

BE, que se presenta en la Tabla IV. Este indicador se basa en el índice de desviación estándar o *Z-score*, obtenido a través del CCE. El cálculo del BE se realiza mediante la siguiente fórmula:  $Budget Error = (SDI \text{ obtenido}) / 2 * 100$ . El SDI es un inductor generado por el mismo ensayo de aptitud, que refleja cuánto se aleja el resultado procesado y enviado por el laboratorio de análisis clínico de la media de consenso.

#### Criterios de evaluación por el CCE

El desempeño del método en términos de exactitud mejora a medida que el *Z-Score* se acerca a cero, mientras que disminuye a medida que se aleja de dicho valor. Según las normativas del programa externo RIQAS, el desempeño del método se considera aceptable si el *Z-Score* es menor o igual a 2<sup>17</sup>.

#### Criterios de evaluación a través del BE

La aprobación del cálculo y aplicación del índice de error total está condicionada a que el *Z-Score* sea aceptado por RIQAS, ya que el indicador BE tiene un límite máximo de error del 100 %. Es crucial, en este aspecto, destacar el uso del valor 2 como denominador en la fórmula *Budget Error*.

#### Evaluación de efectividad clínica

El indicador *Budget Error* se empleó para determinar si los resultados procesados y enviados a RIQAS desde el laboratorio clínico cumplen con el nivel de exactitud y calidad clínica necesarios. Para ello, se utilizaron criterios para evaluar la necesidad de implementar medidas preventivas y/o correctivas, como se describe en la Tabla V.

#### Acciones correctivas

Se tomaron acciones correctivas en aquellos resultados rechazados por RIQAS (*Z-Score* mayor de 2), los cuales se registraron en la Tabla VIII con la notación *RX* (*Rechazado por el CCE*). Además, se implementaron acciones tipo correctivas cuando el valor del índice BE se encontró entre el 70% y el 100%.

#### Acciones preventivas, criterio de no intervención y meta de efectividad clínica

Estos aspectos se detallan en la Tabla V.

**Tabla VI.** Matriz de análisis de modo de efectos de fallo (AMEF).

Analito	Nivel de prioridad por urgencia / vulnerabilidad	Decisión médica / riesgo clínico	Volumen de demanda	Historial de fallos	RPN	Riesgo
Ácido úrico	1	1	3	5	15	Tolerable
Urea	3	1	5	5	75	Moderado
Glucosa	3	3	5	5	225	Alto
Colesterol	1	1	5	5	25	Tolerable
HDL	1	1	3	5	15	Tolerable
LDL	1	1	3	5	15	Tolerable
Creatinina	5	3	5	5	375	Alto
PT	1	1	3	5	15	Tolerable
Triglicéridos	1	1	5	5	25	Tolerable
Hierro [Fe]	1	3	3	5	45	Tolerable
Bilirrubina	5	3	5	5	375	Alto
Sodio [Na]	5	3	5	5	375	Alto
Potasio [K]	5	5	5	5	625	Alto
Cloro [Cl]	3	3	5	5	225	Alto
Calcio [Ca]	1	3	3	5	45	Tolerable
Magnesio [Mg]	3	3	5	5	225	Alto
Fósforo [P]	3	1	3	5	45	Tolerable
GPT	3	1	5	5	75	Moderado
GOT	3	1	5	5	75	Moderado
GGT	3	1	5	5	75	Moderado
FAL	1	1	5	5	25	Tolerable
LDH	1	3	3	5	45	Tolerable
CK	3	1	3	5	45	Tolerable
Amilasa [Amy]	3	3	3	5	135	Moderado
Lipasa	3	3	3	5	135	Moderado
Ácido láctico	5	3	5	5	375	Alto

▶ HDL, lipoproteína de alta densidad; LDL; lipoproteína de baja densidad; PT, proteínas totales; GPT, transaminasa glutámico-pirúvica; GOT, transaminasa glutámico- oxalacética; GGT, gama-glutamyl transferasa; FAL, fosfatasa alcalina; LDH, lactato deshidrogenasa; CK, creatina quinasa.

▶ Proceso: analítico

▶ Para el modo de fallo volumen de demanda, la puntuación es respecto del promedio del volumen de demanda mensual.

### Planes de acción de mejora: estrategias integradas para la gestión de calidad en los laboratorios clínicos

El SGC y la SP se sustentan en el uso de diversas estrategias, como el AMEF, la planificación periódica de la evaluación desempeño del método, indicadores de efectividad como el índice BE y herramientas complementarias, entre las que se incluyen el diagrama de Pareto y el gráfico de Gantt. La integración de estas herramientas facilita la monitorización, identificación y análisis de riesgos y desviaciones a lo largo del tiempo permitiendo la implementación eficiente de acciones preventivas y correctivas. Estos procesos, guiados por herramientas como las "5 M" y el diagrama de Ishikawa, aseguran una mejora continua en la calidad y la eficiencia operativa.

### Resultados

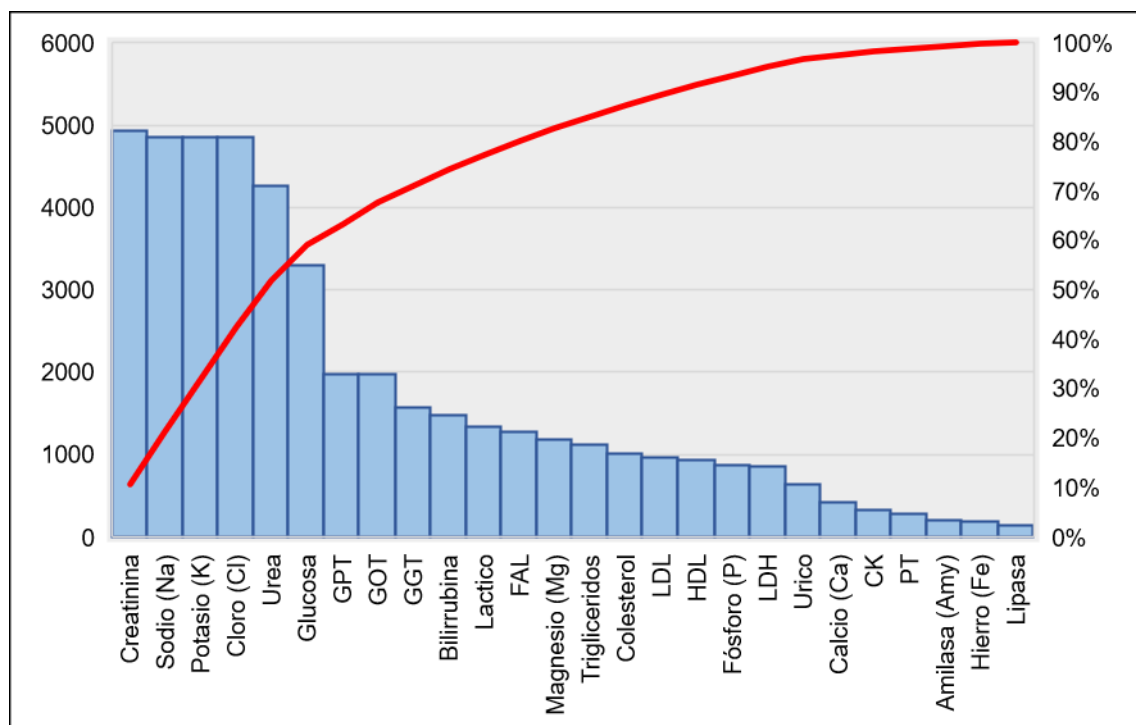
**Evaluación de la matriz de riesgo AMEF para la planificación periódica de la evaluación del desempeño de métodos (Año 2021)**

#### Resultados AMEF y planificación periódica

Respecto de los resultados obtenidos mediante el uso de la matriz AMEF (Tabla VI), para aquellos analitos en los que el método presentaba un nivel de riesgo alto, se determinó una frecuencia cuatrimestral de evaluación de desempeño del método como acción preventiva hacia la minimización del riesgo y la SP. Para el caso de los analitos cuyos procedimientos de medida resultaron en un riesgo moderado, se definió una frecuencia semestral.

En los métodos donde el nivel de riesgo fue tolerable, se



**Figura 1.** Diagrama de Pareto del promedio del volumen de demanda mensual por analito de química clínica (AQC).

► GPT, transaminasa glutámico-pirúvica; GOT, transaminasa glutámico-oxalacética; GGT, Gama-glutamyl transferasa; FAL, fosfatasa alcalina; LDL, lipoproteína de baja densidad; HDL, lipoproteína de alta densidad; LDH, lactato deshidrogenasa; CK, creatina quinasa; PT, proteínas totales.

### Evaluación del indicador de efectividad clínica (Año 2022)

#### Budget Error y acciones correctivas/preventivas

Con los SDI recabados por mes para cada analito a través de la evaluación externa RIQAS, se generaron los 132 resultados que figuran en la Tabla VIII, representando el índice de error total o índice BE.

#### Acciones preventivas

Se identificaron 9 ocasiones (marcadas en color amarillo) en las cuales se iniciaron acciones de tipo preventivo para detectar fuentes de error sistemático. Los procedimientos de medida involucrados fueron:

GPT y ácido láctico (abril);

potasio (junio);

potasio, bilirrubina, urea y glucosa (octubre);

potasio y urea (noviembre).

#### Acciones correctivas

Una instancia (marcada en color rojo) llevó a cabo una acción correctiva para el procedimiento de medida de GPT en noviembre, cuando el Budget error alcanzó el 73%.

#### Decisiones de acciones correctivas sin cálculo del indicador BE

Para el procedimiento de medida de magnesio, en junio, se tomó la decisión de proceder con una acción correctiva sin necesidad de calcular el índice de BE, ya que el resultado fue rechazado directamente por RIQAS.

### Comparación con la evaluación externa (CCE)

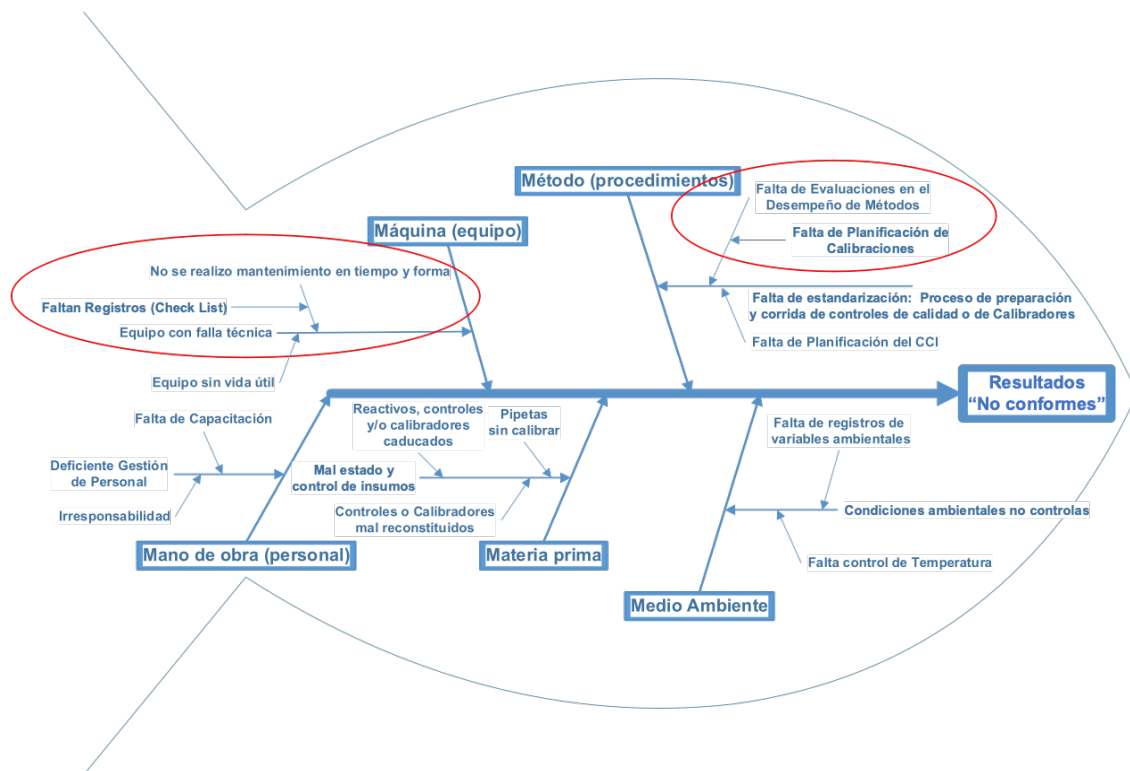
El enfoque proactivo del indicador BE se destaca al generar un mayor número de oportunidades de mejoras en comparación con el CCE, que solo activó una acción correctiva.

### Discusión

La implementación del análisis de modo y efecto de fallo se convierte en una estrategia clave para la gestión de calidad en los laboratorios clínicos, ya que, a pesar de contar con planes de control de calidad interno y externo, los modos de fallo siguen apareciendo de forma imprevista debido a la complejidad inherente a las pruebas, procedimientos, entorno y aplicaciones clínicas particulares.

Este enfoque ofrece beneficios significativos al adaptarse a cualquier entorno hospitalario permitiendo considerar para la categorización del riesgo de los procedimientos de medida factores como la disponibilidad de métodos *Gold* estándar de comparación, la presencia de sistemas analíticos equivalentes y la complejidad del test. La combinación del AMEF, Pareto y las acciones preventivas derivadas, como la evaluación del desempeño de métodos, se revelan como estrategias efectivas para controlar las variaciones. Además, junto con el diagrama de Gantt como herramienta adicional, posibilitan una planificación estratégica periódica para dirigir y administrar de manera eficaz los recursos operativos optimizando la ejecución de las evaluaciones y garantizando una gestión exitosa del desempeño de los métodos.

Figura 2. Diagrama de Ishikawa, 5M y tormenta de Ideas para el análisis e identificación de las causas raíz.



► Dentro del círculo rojo, las causas raíz derivadas del análisis de riesgo, que surge de aplicar las múltiples estrategias de calidad como AMEF, sus herramientas complementarias y el enfoque proactivo del indicador de efectividad BE.

La integración de herramientas, como el diagrama de causa y efecto (Ishikawa), las “5M” y la “tormenta de ideas”, permite el análisis e identificación precisa de las causas raíz ante la presencia de desvíos u oportunidades de mejora (plan de acción). Este análisis de causa raíz basado en los resultados del AMEF y el indicador de efectividad *Budget Error*, conduce a una toma de decisiones y tratamiento específico (Figura 2). Las recalibraciones son el componente responsable de que todos los procedimientos de medida dentro de la matriz de riesgo tengan la puntuación más alta en el atributo *historial de fallo*. Esta consideración, junto al riesgo de error sistemático medido por el índice BE, impulsó a redefinir estratégicamente tanto la frecuencia de las calibraciones programadas como los intervalos para los mantenimientos preventivos de los equipos o máquinas, ya que el envejecimiento de los componentes, los cambios de temperatura y el estrés mecánico que soportan deterioran poco a poco sus funciones. Por lo tanto, el laboratorio clínico debería desarrollar su propio plan de mantenimiento y calibración con la premisa de que son los usuarios quienes eligen o determinan la periodicidad con respecto al ajuste. Esto tiene como objetivo lograr una gestión de mediciones dentro del SGC que asegure la competencia técnica de los ensayos que se aplican y las calibraciones que se ejecutan<sup>18,19</sup>.

La implementación de estrategias integradas como el indicador de efectividad BE y el AMEF señalan un cambio de conducta hacia una gestión proactiva de riesgos. Este enfoque, combina-

do con múltiples herramientas estratégicas y evaluaciones de rendimiento, contribuye a la construcción de una cultura organizacional centrada en la calidad<sup>20</sup>.

Por otra parte, Migliarino<sup>21</sup> indica que no es frecuente que los laboratorios clínicos que participan en ensayos de aptitud evalúen el impacto de las no conformidades sobre los resultados ya liberados y que, de prestarles atención, utilizan una conducta reactiva en donde se pone atención solo a los resultados rechazados de la última encuesta. En esencia, se requiere de un compromiso con la SP que tienda hacia la minimización del evento adverso, logro alcanzado con el uso del indicador BE, que consigue el viraje de conducta de riesgo.

Siempre que la gestión de calidad esté basada en un modelo o sistema de gestión de calidad otal, aplique indicadores de gestión, y se determine un equipo de aprendizaje, auditoría e investigación, se podrán implementar planes de calidad de manera efectiva, construir una cultura de calidad organizacional y llevar a cabo una mejora continua<sup>6,22</sup>.

En este trabajo, hacemos solo mención del índice *Budget error* como indicador de efectividad clínica, pensado para ser usado de forma indistinta por el analista y/o coordinador de calidad. Sin embargo, existe la posibilidad de construir indicadores de efectividad para monitoreo específico por parte del coordinador. Estos se consiguen a través de los inductores de medidas acumulativas que surgen de los programas externos. En general, la implementación de indicadores de efectividad

clínica provenientes de ensayos de aptitud acreditados por ISO 17043 permite que se cuente con la garantía de que su fuente de base de datos cumple con ciertos requisitos necesarios, ya sean funcionales (confidencialidad, informes estadísticos, asesoría, soporte y acreditación) o, de competencia técnica, como lo son la estabilidad y homogeneidad de la matriz, la trazabilidad y la existencia de estimaciones metrológicas<sup>23</sup>. Además, la rigurosidad estadística del CCE, al proporcionar el número de participantes y una media respaldada por la incertidumbre de medida (Um), permite validar la exactitud de los resultados obtenidos a través del mismo otorgando credibilidad, significancia y confiabilidad a los inductores de evaluación de desempeño que puedan ser utilizados para el cálculo de cualquier indicador de efectividad definido de forma institucional. Esto, sin duda, facilita la realización de evaluaciones de riesgo certeras y la implementación oportuna de acciones correctivas y/o preventivas en tiempo y forma, asegurando resultados clínicos óptimos.

Afrontar desafíos futuros implica considerar aspectos como el costo y la utilización eficiente de recursos en la elaboración de este tipo de indicadores debido a que la gestión de calidad total no solo busca resultados clínicos óptimos, sino también la minimización de recursos y costos asociados<sup>6</sup>.

En resumen, concluimos que la aplicación integral de múltiples estrategias y herramientas complementarias como AMEF, el diagrama de Pareto, el diagrama de Gantt, las "5 M" y el diagrama de Ishikawa, combinadas con el enfoque proactivo del indicador de efectividad *Budget Error*, es fundamental para gestionar el riesgo, optimizar recursos y esfuerzos en la gestión del desempeño de métodos, generar un cambio de conducta (de reactiva a proactiva), promover una cultura de calidad y facilitar la mejora continua en los laboratorios clínicos.

## Agradecimientos

Agradecemos al HPUC por brindar los recursos y los materiales necesarios para llevar a cabo este trabajo de investigación, a los colegas integrantes de este equipo por la misma razón, principalmente, a la Bioquímica Bonetto, Ayelén y, sobre todo, al Dr. Pablo Rodrigo Lujan, por haber confiado en él y haberle permitido seguir evolucionando y adquirir día a día nuevos conocimientos.

De igual manera, agradece a su familia y, como parte de ella, a la Bioquímica Nogah Antonini, por ser su sostén en aquellos momentos difíciles donde más se necesita del amor y la compañía. Por último, agradece a la Dr. Silvia Barzón por la disposición y ayuda brindada a lo largo de toda su carrera profesional en el afán de luchar por alcanzar las metas propuestas a lo largo del camino.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

## Referencias bibliográficas

- Terrés-Speziale AM. Importancia de la variabilidad biológica y de la relevancia médica en la Norma ISO-15189. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2003;50(3):118-128.
- Westgard J, Mercapide L, Sáez A, et al. Cómo garantizar la calidad analítica. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2010;57(4):179-189.
- Westgard JO, Migliarino G. Sistemas de Gestión de la Calidad para el Laboratorio Clínico. Madison, WI: QC Westgard Inc.; 2014.
- IRAM ISO 15189. Laboratorios de análisis clínicos – Requisitos para la calidad y la competencia. 2014.
- Guidelines ISO 31000. Gestión del riesgo-Directrices Risk management; 2018.
- Etcheverry, G. Gestión de Calidad en Laboratorios Clínicos: Implementación de Gestión Clínica. *Revista Bioanálisis* 2006; 11, 43-6.
- Carraro P, Plebani M. Errors in a Stat laboratory: Types and Frequencies 10 Years Later. *Clin Chem*. 2007; 53(7):1338-42, <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.088344>
- Figuroa-Montes Luis Edgardo. Gestión de riesgos en los laboratorios clínicos. *Acta Med. peruana [Internet]*. 2015 [citado 2023 Jul 07]; 32(4): 241-250. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v32n4/a08v32n4.pdf>
- Westgard JO. Perspectives on quality control, risk management, and analytical quality management. *Clin Lab Med*. 2013;33(1):1-14, <https://doi.org/10.1016/j.cll.2012.10.003>
- Torres-Gamarra G. El ABC de la calidad en el laboratorio clínico. 1st. Edición. Perú: Editorial Caja Negra; 2021.
- Westgard, J. O. Prácticas básicas de control de la calidad. Madison, WI: QC Westgard Inc.; 2013.
- Terrés- Speziale, A.M. Six Sigma: determinación de metas analíticas con base en la variabilidad biológica y la evolución tecnológica. *Rev. Mex. Patol. Clín. Med. Lab*. 2007; 54(1):28-39.
- Westgard S. Prioritizing risk analysis quality control plans based on Sigma-metrics. *Clin Lab Med*. 2013;33(1):41-53, <https://doi.org/10.1016/j.cll.2012.11.008>
- González Fajardo I, Linares Guerra E, León Sánchez M, Santana Porbén S. Validación del laboratorio clínico como Unidad Rectora para un Sistema de Control Externo de la Calidad. *Rev. Ciencias Médicas de Pinar del Río [revista en Internet]*. 2020 [citado 2023 Jul 7]; 24(5):1-12. Disponible en: <https://grevcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/articulo/view/4518>.
- Terrés A. Trazabilidad metrológica, validación analítica y consenso de resultados en la confiabilidad del laboratorio clínico. *Rev. Mex. Patol. Clín. Med. Lab*. 2009;56(1):27-35.
- Sciacovelli L, Lippi G, Sumarac Z, West J, García Del Pino Castro I, Furtado Vieira K, et al. Quality Indicators in Laboratory Medicine: the status of the progress of IFCC Working Group "Laboratory Errors and Patient Safety" project. *Clin Chem Lab Med*. 2017;55(3):348-357.
- Randox Laboratories LTD. Randox International Quality Assessment Scheme- RIQAS [Internet]. 2021 [Citado 2022 diciembre 02]: [56 páginas]. Disponible en: <https://pdf.medicaexpo.es/pdf-en/randoxlaboratories/lt033-riqas-explained/69798-173358.html>
- IRAM ISO 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Primera edición. Versión corregida en marzo de 2018.
- ISO 10012. Sistemas de gestión de las mediciones. Requisitos para los procesos de medición y los equipos de medición; 2003.
- Gask L, Rogers A, Campbell S, Sheaff R. Beyond the limits of clinical governance? The case of mental health in English primary care. *BMC Health Serv Res*. 2008; 8:63, <https://doi.org/10.1186/1472-6963-8-63>
- Migliarino G. Esquemas de evaluación externa de la calidad en América Latina. *J Int Fed Clin Chem Lab Med*. 2015; 26 (4): 238–50.
- Wallace LM, Freeman T, Latham L, et al. Organizational strategies for changing clinical practice: how trusts are meeting the challenges of clinical governance. *Qual Health Care* 2001;10(2):76-82, <https://doi.org/10.1136/qhc.10.2.76>
- INACAL. Participación en Ensayos de Aptitud / Comparaciones Interlaboratorios. Policy and Criteria for participation on Proficiency Testing. 2018; 3:15.



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Análisis del genoma completo de las cepas emergentes de rotavirus G9P[4] y G8P[8] en Argentina: nueva introducción vs. reordenante de cepas locales

*Complete genome analysis of emergent G9P[4] and G8P[8] rotavirus strains in Argentina: novel introduction vs. re-assortment of local strains*Martelli, Antonella<sup>1</sup>; Marchetti, Paulina<sup>2</sup>; Eibar, Vanina Sol<sup>3</sup>; Stupka, Juan Andrés<sup>2</sup>; Degiuseppe, Juan Ignacio<sup>2</sup><sup>1</sup>Instituto Universitario del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Dr. Norberto Quirno" (CEMIC), Ciudad de Buenos Aires, Argentina.<sup>2</sup>INEI-ANLIS "Dr. Carlos G Malbrán". Ciudad de Buenos Aires, Argentina.<sup>3</sup>Laboratorio Central, Hospital Pediátrico "Dr. Humberto Notti". Mendoza, Argentina

\*Contacto: Martelli, Antonella; Instituto Universitario del Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas "Dr. Norberto Quirno" (CEMIC), C1431FW0. Ciudad de Buenos Aires, Argentina; antomartelli94@gmail.com

**Resumen**

Introducción: Rotavirus A (RVA) presenta asociaciones G-/P- comunes e inusuales. El reordenamiento entre cepas durante una coinfección constituye uno de sus mecanismos más importantes en la generación de diversidad genética. Durante el período 2017-2018, se detectaron dos asociaciones inusuales (G9P[4] y G8P[8]) por primera vez en Argentina. Se desconoce si representan nuevas introducciones o si son producto de un reordenamiento entre asociaciones comunes locales. Objetivo: Analizar las relaciones filogenéticas y evolutivas de G9P[4] y G8P[8] con respecto a las asociaciones comunes circulantes del mismo período. Materiales y métodos: Se incluyeron cepas de RVA representativas de asociaciones comunes (n=11) e inusuales (n=2), detectadas durante el período 2016-2018, en el marco de la vigilancia epidemiológica nacional. Partiendo de materia fecal, se realizó la extracción de ácidos nucleicos y se amplificaron y secuenciaron los 11 segmentos genómicos. Se determinaron las constelaciones genéticas, se construyeron árboles filogenéticos y se elaboraron matrices de distancia en los niveles nucleotídico y aminoacídico. Resultados: Las constelaciones obtenidas fueron G9P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E6-H2 y G8P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2. La G8P[8] se relacionó en 10 segmentos con una G3P[8] que circuló en 2016. G9P[4] se relacionó en 6 genes con una G2P[4] que circuló en 2016, en 2 genes, con una G3P[8] del 2016 y en un gen, con una G2P[4] del 2017. Sin embargo, no se observaron fenómenos de reordenamiento en ninguno de los 11 segmentos. Conclusiones: Las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], detectadas en Argentina, son producto de una introducción en nuestro país.

**Palabras clave:** rotavirus A, Argentina, diarrea, G8P[8], G9P[4].**Abstract**

Introduction. Rotavirus A (RVA) presents common and unusual G-/P- associations. The re-assortment between strains during a co-infection is one of the most important mechanisms in generating genetic diversity. In Argentina, two unusual associations (G9P[4] and G8P[8]) were detected for the first time during 2017-2018. It is unknown whether these strains represent new introductions or are the result of reassortment between local common associations. Objective. To analyze the phylogenetic and evolutionary relationships of the G9P[4] and G8P[8] strains respect to the common associations that circulated during the same period. Materials and Methods. Representative RVA strains of both common (n=11) and unusual associations (n=2) detected during 2016-2018 were included in this study, as part of national epidemiological surveillance. Nucleic acids were extracted from fecal samples, and all 11 genomic segments were amplified and sequenced. The genetic constellations of all strains were determined, phylogenetic trees were constructed, and nucleotide and amino acid distance matrices were generated. Results. The constellations of both associations were G9P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E6-H2 and G8P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2. In 10 segments, the G8P[8] strain was more closely related to a G3P[8] strain that circulated in 2016. In 6 genes, G9P[4] was more closely related to a G2P[4] strain that circulated in 2016, whereas in 2 genes it was more closely related to a G3P[8] strain from 2016, and in 1 gene to a G2P[4] strain from 2017. However, no reassortment events were observed in any of the 11 segments. Conclusions. The emerging G9P[4] and G8P[8] strains detected in Argentina are the result of novel introductions into our country.

**Keywords:** rotavirus A, Argentina, diarrhea, G8P[8], G9P[4].

## Introducción

La infección por rotavirus del grupo A (RVA) es la causa más importante de diarrea aguda no inflamatoria en los niños. En general, es responsable de provocar anualmente más de 450.000 muertes en menores de 5 años, con un patrón de mortalidad heterogéneamente distribuido, ya que la mayoría de las muertes ocurren en países en desarrollo<sup>1,2</sup>. En Argentina, antes de la incorporación de la vacunación universal contra rotavirus, se notificaban anualmente más de 1,2 millones de casos de diarrea aguda de los cuales la mitad se producía en menores de 5 años<sup>3</sup>. Por su parte, el rotavirus era responsable de aproximadamente 150.000 casos de diarrea aguda, 15.000 ingresos hospitalarios y alrededor de 30 muertes por año en este grupo etario<sup>4</sup>. Por lo tanto, la enfermedad diarreica por RVA tiene un impacto significativo en la morbilidad y mortalidad, así como en los costos de salud.

El genoma del rotavirus comprende 11 segmentos de ARN bicatenario (ARNdc) que están rodeados por una cápside icosaédrica de tres capas. Estos segmentos de ARN codifican seis proteínas estructurales virales (VP1 a VP4, VP6 y VP7) y seis proteínas no estructurales (NSP1 a NSP6). La capa externa de la cápside viral contiene las proteínas VP7 y VP4, responsables de generar la producción de anticuerpos neutralizantes e, históricamente, las diferencias genéticas y antigénicas se han utilizado para clasificar a los rotavirus en tipos G (glicoproteína) y tipos P (proteasa), respectivamente<sup>5,6</sup>.

A pesar de que se han descrito múltiples asociaciones de genotipos, solo seis han sido detectadas en forma predominante en infecciones clínicas humanas, consideradas usuales o comunes: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8], G9P[8] y G12P[8]<sup>7,8</sup>. Estas asociaciones de los tipos G y P han demostrado tener una mayor adaptabilidad que otras, lo que les permite diseminarse en la población de manera eficiente. La cocirculación, las fluctuaciones interanuales y geográficas, así como la aparición periódica de cepas consideradas inusuales, son características de la epidemiología del rotavirus<sup>9</sup>.

Estudios de similitud del ARN genómico de diferentes grupos y combinaciones de los tipos G y P han demostrado que existen restricciones en el reordenamiento de genes y que, en su mayoría, están reguladas por la interacción entre diferentes proteínas virales y las interacciones virus – hospedador<sup>10,11</sup>. Globalmente, se han definido tres grupos característicos (genogrupos), antigénicamente distantes entre sí, que han sido denominados de acuerdo con su cepa de referencia: Wa, DS-1 y AU-1. El genogrupo Wa presenta en su mayoría el genotipo P[8], asociado a los tipos G : G1, G3, G4, G9 y G12; el genogrupo DS-1 generalmente contiene el genotipo P[4] asociado al tipo G2; y el genogrupo AU-1 está representado por la combinación G3P[9].

Hace algo más de una década, el Grupo de Trabajo de Clasificación de Rotavirus (RCWG, del inglés, Rotavirus Classification Working Group) propuso un abordaje superior al de la clasificación binaria convencional mediante el análisis integral de los 11 segmentos del genoma de rotavirus, asignándoles a cada uno de ellos un genotipo de acuerdo con su secuencia nucleotídica, estableciendo lo que se denominan *constelaciones genéticas* (ex-

presadas como GxP[x]-Ix-Rx-Mx-Cx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx, en donde “x” reemplaza a un número arábigo que se asigna de acuerdo con el genotipo de los genes VP7, VP4, VP6, VP1, VP2, VP3, NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 y NSP5, respectivamente)<sup>12,13</sup>. Este tipo de abordaje demostró ser una herramienta útil para evaluar las relaciones evolutivas entre diferentes cepas, rastrear eventos de reordenamiento genético, estudiar la vinculación funcional de los genes y comprender los orígenes de las cepas de rotavirus poco frecuentes. En este sistema, la cepa Wa se clasifica como genotipo 1 (G1-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1), la cepa DS-1, como genotipo 2 (G2-P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2) y la cepa AU-1, como genotipo 3 (G3-P[9]-I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H3).

Estos virus evolucionan a través de diversos mecanismos genéticos. Debido a la falta de capacidad para corregir errores de la ARN polimerasa dependiente del ARN, los rotavirus acumulan constantemente mutaciones puntuales en cada ciclo de replicación, lo que colabora en la evolución del virus<sup>10</sup>. Por otra parte, debido a su naturaleza segmentada, el reordenamiento entre cepas de rotavirus (intercambio de uno o más segmentos genómicos entre dos cepas) como resultado de una coinfección en un mismo hospedador representa otro de los mecanismos evolutivos de mayor importancia<sup>11,14</sup>.

En el 2006, la Organización Mundial de la Salud recomendó como estrategia la incorporación de la vacunación universal contra el rotavirus en los Calendarios Nacionales de Vacunación con el objetivo de disminuir la carga de enfermedad severa asociada a este enteropatógeno viral en los menores de 5 años<sup>15</sup>. Actualmente, existen dos vacunas orales licenciadas: una pentavalente con reordenantes humano - bovino de tres dosis (RotaTeq® Merck) y una monovalente de rotavirus humano atenuado, de 2 dosis (Rotarix® GSK)<sup>16,17</sup>. Ambas vacunas han demostrado ser seguras y eficaces<sup>17,18</sup>. A pesar de que América Latina experimentó una rápida y exitosa introducción de vacunas contra el rotavirus a partir del 2006, Argentina incorporó Rotarix® GSK a su Programa Nacional de Inmunización desde el 1 de enero de 2015<sup>19</sup>.

Se ha descrito que la introducción de la vacuna puede producir cambios rápidos en los patrones de circulación de los genotipos de rotavirus, es decir, cambios en la ecología viral. Particularmente, en países que habían implementado la vacuna monovalente, se observó un aumento en la detección de la asociación G2P[4] en los casos residuales de diarrea por rotavirus, y un aumento de G3P[8] cuando la vacuna pentavalente se utilizó como estrategia masiva<sup>20-23</sup>.

En Argentina, luego de dos años de la implementación de la vacuna, se observó una disminución significativa en los casos de diarrea aguda de cualquier etiología y en los casos de rotavirus confirmados en los menores de 5 años. Con respecto a los genotipos circulantes en el período posvacunal, durante el primer año, se vio un desplazamiento significativo hacia la asociación G2P[4], pero, posteriormente, disminuyó hasta hacerse indetectable y se observaron un aumento de G3P[8], G12P[8] y algunas asociaciones inusuales<sup>24</sup>. Más recientemente, se detectó un aumento en la circulación de asociaciones consideradas no comunes: G9P[4] en el 2017 y G8P[8] en el 2018<sup>25</sup>. En

**Tabla 1.** Descripción general de las muestras incluidas en el estudio.

			Genotipo asignado								
Año	Tipo G/P-	Nombre	VP6	VP1	VP2	VP3	NSP1	NSP2	NSP3	NSP4	NSP5
<i>Cepas emergentes</i>											
2017	G9P[4]	Arg15957	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E6	H2
2018	G8P[8]	Arg16571	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E2	H2
<i>Asociaciones de los tipos G/P comunes</i>											
2016	G2P[4]	Arg15170	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E2	H2
2016	G3P[8]	Arg15240	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E2	H2
2016	G9P[8]	Arg15189	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2016	G12P[8]	Arg15133	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2017	G2P[4]	Arg15805	I2	R2	C2	M2	A2	N2	T2	E2	H2
2017	G3P[8]	Arg15509	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2017	G12P[8]	Arg15830	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2017	G9P[8]	Arg15892	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2018	G12P[8]	Arg16273	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2018	G9P[8]	Arg15987	I1	R1	C1	M1	A1	N1	T1	E1	H1
2018	G3P[8]	Arg16618	I1	R1	C1	x	A1	N1	T1	E1	H1

► X, genotipo no asignado. Observaciones: para una mejor visualización, Los genotipos 1 se identifican en verde; los genotipos 2, en rojo y el genotipo 6, en celeste.

el contexto de la vigilancia posvacunal, la emergencia de nuevas asociaciones y los nuevos paradigmas de análisis propuestos mundialmente para determinar el origen evolutivo de las mismas son hechos que promueven el abordaje de estos eventos mediante tales modelos.

El objetivo del presente trabajo fue analizar el genoma completo de las cepas inusuales emergentes de rotavirus G9P[4] y G8P[8], detectadas durante la vigilancia posvacunal en Argen-

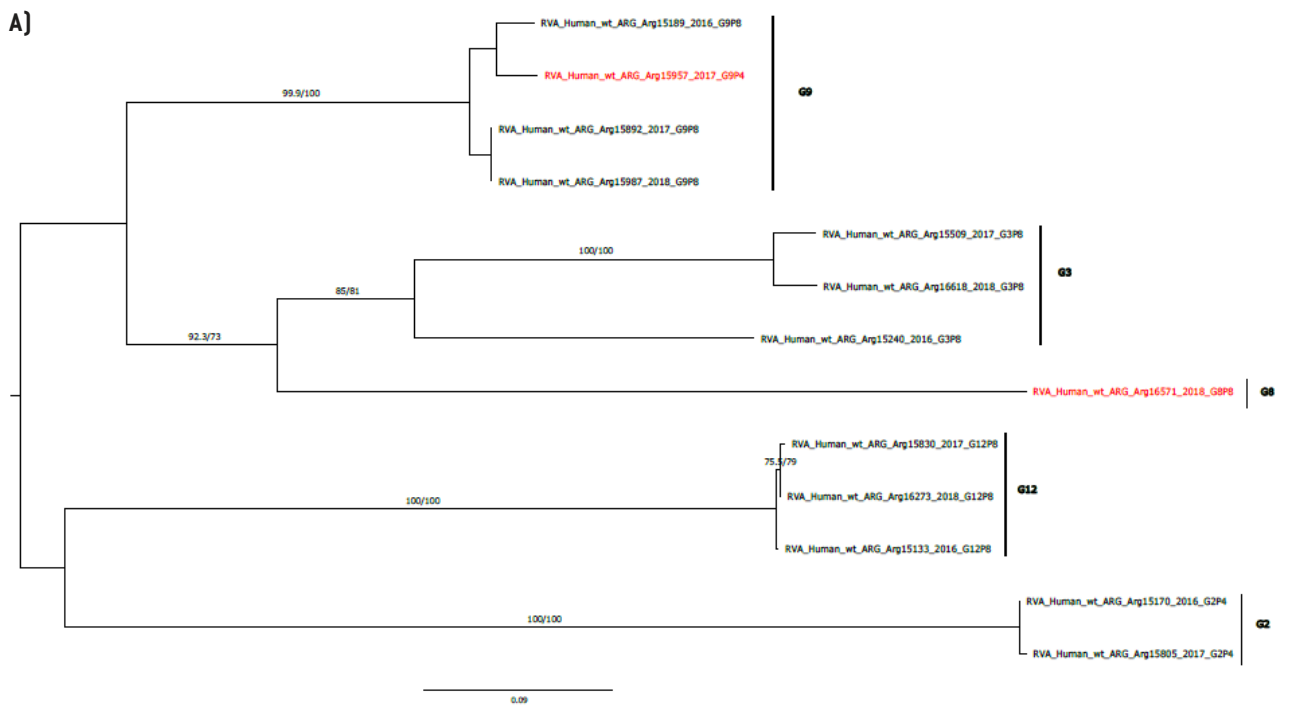
tina durante 2017-2018, y las relaciones filogenéticas con respecto a las cepas comunes circulantes en el mismo período. De esta forma, será posible investigar en forma integral si la emergencia de estas asociaciones inusuales son producto de un reordenamiento entre segmentos de cepas comunes que circulan frecuentemente, lo que les ha permitido adquirir una adaptabilidad eficiente para diseminarse con relativa frecuencia, o si son el resultado de la introducción de una nueva cepa.

**Materiales y métodos**

Se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal, en el que se seleccionó un grupo de 13 muestras de materia fecal provenientes de la colección del Laboratorio de Gastroenteritis Virales del INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” que representaran el conjunto de cepas inusuales, una G9P[4] y una G8P[8] y las comunes que circularon durante el periodo 2016 a 2018, tomando 4 muestras de cada uno de los años 2016 y 2017, y 3 muestras de 2018, que pudieron haber influenciado la adaptabilidad de ellas. Estas muestras fueron recolectadas en el marco de la vigilancia epidemiológica molecular de RVA a través de la Red Nacio-

nal de Vigilancia de Gastroenteritis Virales que coordina el Laboratorio Nacional de Referencia de Rotavirus y Norovirus. La caracterización molecular de los tipos G y P se había realizado previamente mediante la extracción del ARN viral, a través del uso de columnas de sílica (QIAmp Viral RNA Kit, Qiagen) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Posteriormente, se amplificaron y secuenciaron los genes que codifican para las proteínas VP7 y VP4, de acuerdo con procedimientos descritos previamente<sup>25</sup>. El criterio de representatividad que se utilizó en la selección fue que, para cada año, una misma combinación de tipo G/P tuviese más del 95% de identidad en el nivel nucleotídico en las

**Figura 1.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen VP7.



**B)**

Identidad Nt	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg16571 G8P[8] (2018)
Arg15957 G9P[4] (2017)	76,9%	75,6%	96,6%	79,8%	78,1%	75,5%	77,2%	96,2%	-	96,2%	77,1%	77,9%	75,5%
Arg16571 G8P[8] (2018)	70,5%	72,8%	75,5%	77,0%	75,6%	72,6%	70,6%	76,3%	75,5%	76,2%	70,5%	76,1%	-

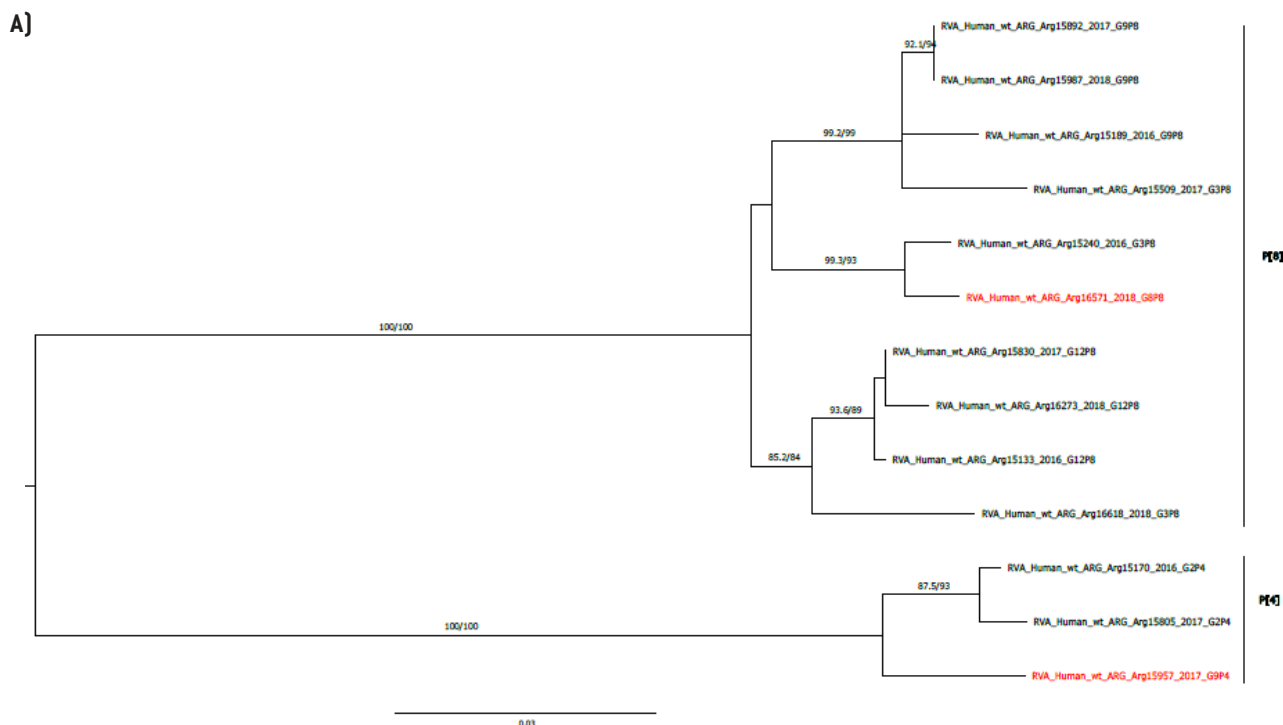
  

Identidad AA	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg16571 G8P[8] (2018)
Arg15957 G9P[4] (2017)	81,8%	77,7%	96,6%	88,4%	85,4%	77,7%	81,9%	96,9%	-	96,9%	81,9%	85,6%	82,5%
Arg16571 G8P[8] (2018)	77,7%	76,0%	82,5%	84,9%	83,6%	76,0%	77,7%	84,8%	82,5%	84,9%	77,7%	83,9%	-

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen VP7 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos G se muestran en llaves.

► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen VP7 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

**Figura 2.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen VP4.



**B)**

Identidad Nt	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg16571 G8P[8] (2018)
Arg15957 G9P[4] (2017)	85,9%	97,4%	85,5%	86,4%	85,9%	97,0%	86,3%	86,1%	-	85,8%	85,5%	85,7%	86,7%
Arg16571 G8P[8] (2018)	96,7%	86,2%	96,0%	98,9%	95,5%	86,0%	96,7%	96,2%	86,7%	96,5%	96,2%	96,1%	-

Identidad AA	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg16571 G8P[8] (2018)
Arg15957 G9P[4] (2017)	91,2%	97,3%	90,5%	91,1%	91,8%	96,6%	91,2%	90,4%	-	90,1%	91,1%	90,5%	91,2%
Arg16571 G8P[8] (2018)	97,3%	91,2%	93,9%	98,0%	93,9%	90,5%	97,3%	93,8%	91,2%	93,6%	97,3%	96,6%	-

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen VP4 [parcial] del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos P se muestran en llaves.

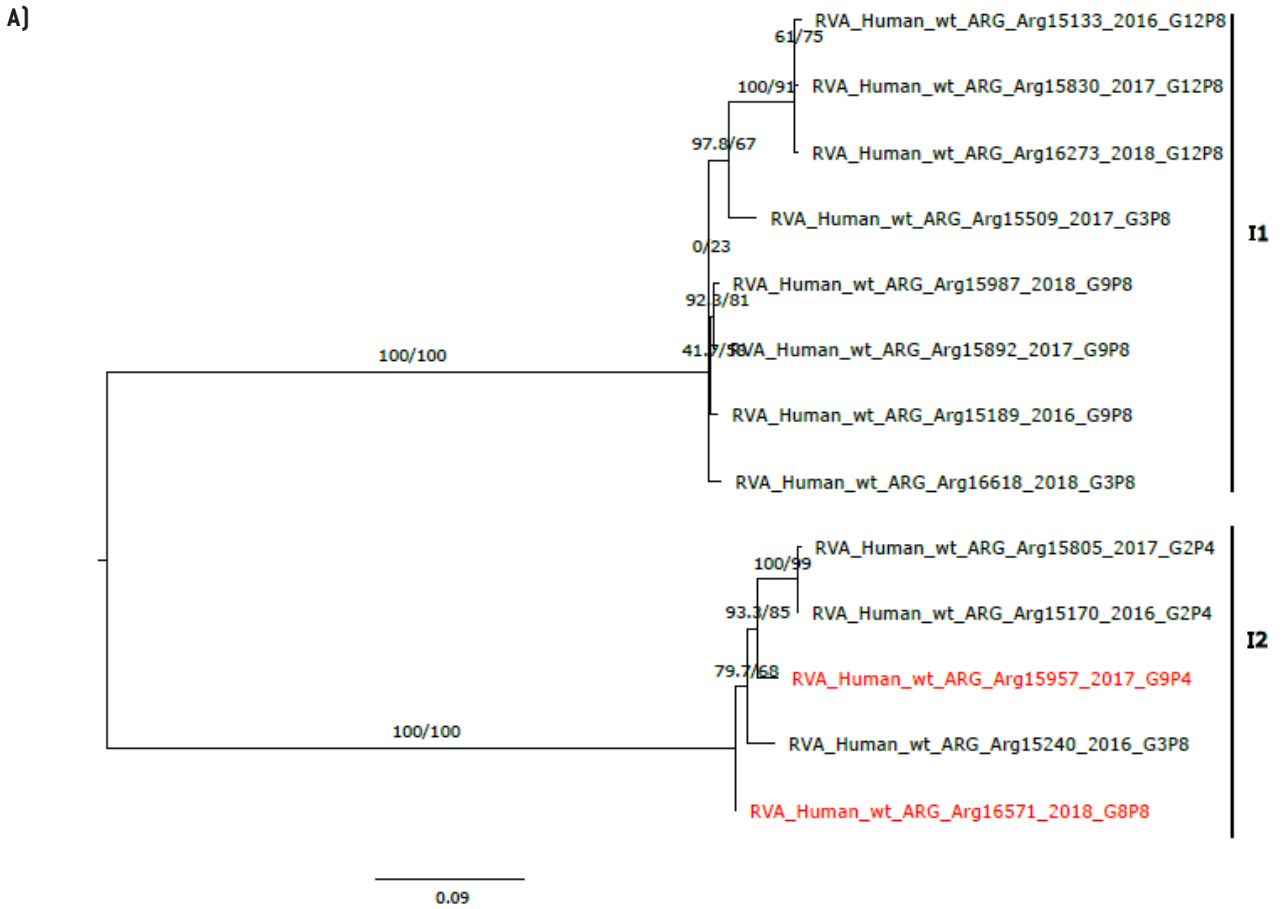
► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen VP4 [parcial] de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

secuencias de los genes VP7 y VP4 [análisis preliminar]. De presentar un menor porcentaje, se incluiría para ese mismo año una segunda muestra que representara a esa subpoblación de la combinación.

Por otra parte, las muestras seleccionadas en este estudio para la genotipificación de los 9 segmentos restantes fueron reextraídas de acuerdo con lo mencionado anteriormente. Posteriormente, se realizó una retrotranscripción, seguida de una reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), con el objetivo de amplificar los 9 segmentos genómi-

cos mediante el uso de reactivos comerciales del tipo “en un solo paso” (one-step RT-PCR kit) con cebadores específicos, descritos previamente en la literatura<sup>26</sup>. Los productos de amplificación se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 1% con el objetivo de visualizar las bandas correspondientes a los fragmentos esperados. Las bandas fueron cortadas del gel para luego ser purificadas por un método de extracción de gel de un kit comercial, de manera de eliminar impurezas y otros componentes de la reacción no deseados (AccuPrep PCR/Gel purification kit, Bioneer). Por último, se

**Figura 3.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen VP6.



► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen VP6 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos I se muestran en llaves.

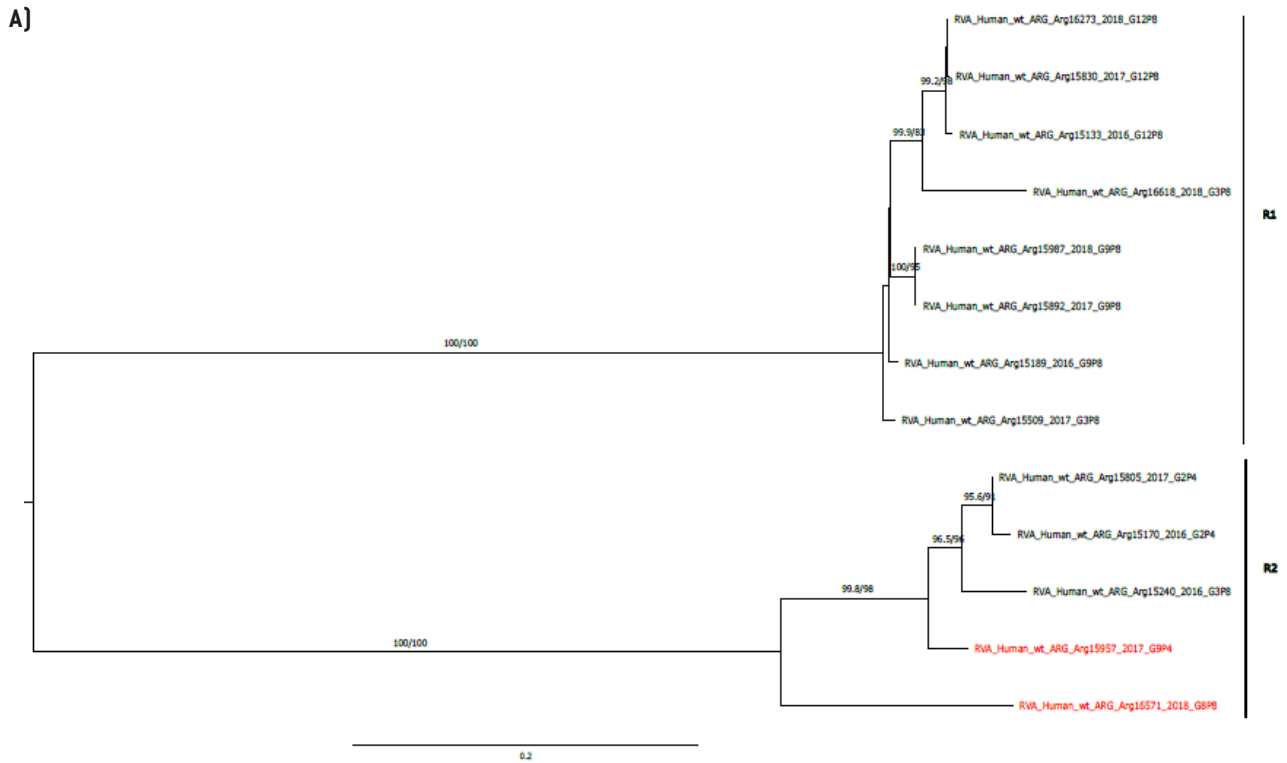
► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen VP6 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

realizó la reacción de secuenciación utilizando los mismos cebadores específicos que se usaron en la RT-PCR. Los productos de esta reacción también fueron purificados por un kit comercial (BigDye XTerminator Purification Kit, Applied Biosystems) y se secuenciaron con un equipo de secuen-

ciación por Sanger (3500 Series Genetic Analyzer, Applied Biosystems).

La edición de las secuencias obtenidas se realizó mediante el programa BioEdit v7.0.1. A cada una de ellas, se les asignó su genotipo correspondiente mediante el uso de

**Figura 4.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen VP1.



**B)**

Identidad Nt	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15957 G9P[4] (2017)
Arg15957 G9P[4] (2017)	-	85,9%	93,6%	80,3%	80,5%	80,2%	80,5%	80,2%	80,5%	95,0%	80,2%	80,5%	94,8%
Arg16571 G8P[8] (2018)	85,9%	-	86,5%	79,3%	79,2%	78,8%	79,2%	78,7%	78,7%	86,1%	78,8%	79,1%	85,7%

Identidad AA	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15957 G9P[4] (2017)
Arg15957 G9P[4] (2017)	-	86,8%	94,2%	80,7%	81,4%	80,9%	81,4%	80,8%	81,2%	95,6%	80,8%	81,3%	95,3%
Arg16571 G8P[8] (2018)	86,8%	-	87,2%	79,5%	79,6%	79,2%	79,6%	79,2%	79,0%	86,5%	79,3%	79,4%	86,1%

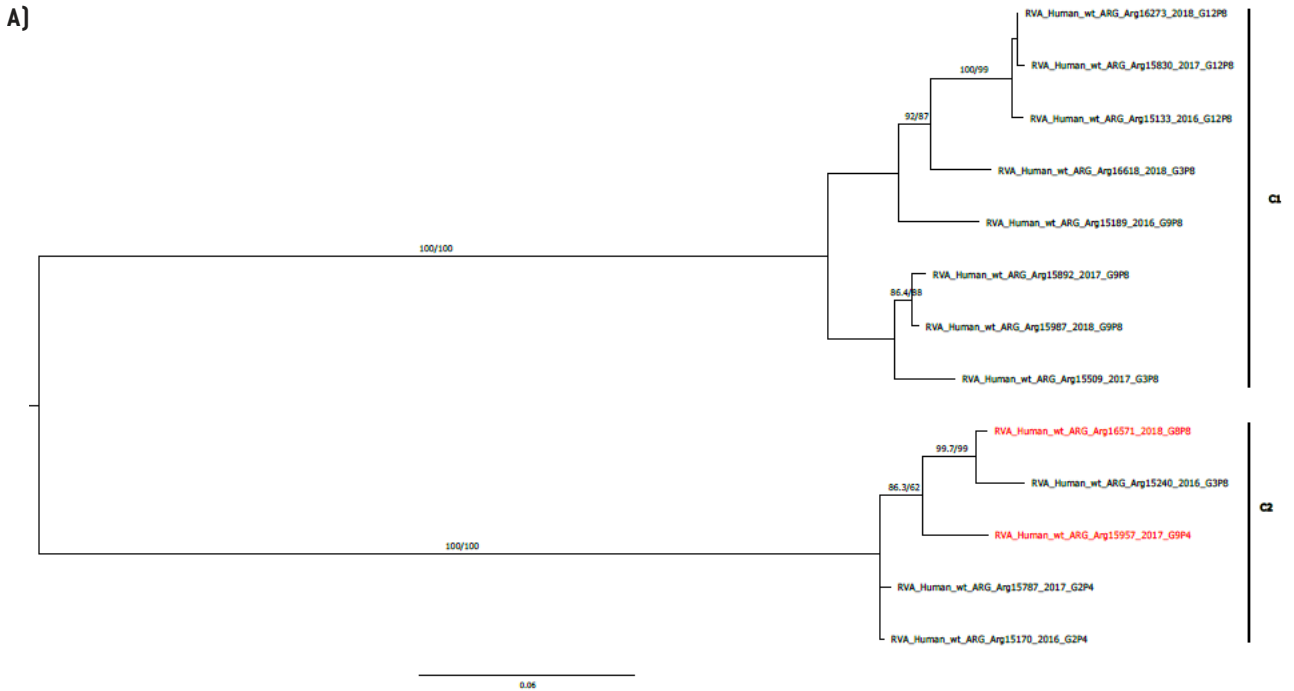
► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen VP1 [parcial] del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética [sustituciones de nucleótidos por sitio]. Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos R se muestran en llaves.

► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen VP1 [parcial] de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

la herramienta online *Rotavirus A Genotype Determination*, que se encuentra disponible en el sitio web *Virus Pathogen Database and Analysis Resource* (ViPR, <https://legacy.viprbrc.org/brc/rvaGenotyper.spg?method=ShowCleanInputPage&decorator=reo>). Para cada gen, se determinó el porcentaje de identidad en el nivel nucleotídico y aminoacídico de las muestras seleccionadas en el presente estudio. Asimismo, se dedujeron las secuencias de aminoácidos a

partir de las secuencias nucleotídicas para identificar potenciales cambios. En ambos casos, se utilizó el programa MEGA X v10.1.8. Para conocer las relaciones evolutivas, se construyeron los árboles filogenéticos de cada gen por el método de máxima verosimilitud, mediante el servidor *web IQ-TREE* (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at>), posterior a la estimación del modelo de sustitución, de acuerdo con el criterio de información de Akaike y con medidas de confiabilidad del

**Figura 5.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen VP2



**B)**

Identidad Nt	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15787 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	81,0%	80,3%	-	96,7%	95,8%	80,3%	81,1%	80,3%	81,0%	97,0%	80,5%	79,4%	97,1%
Arg16571 G8P[8] (2018)	79,9%	79,8%	96,7%	-	98,4%	79,9%	80,0%	79,8%	79,9%	96,9%	79,8%	78,9%	97,0%
Identidad AA	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15787 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	84,1%	83,8%	-	96,3%	96,6%	83,4%	84,4%	83,6%	83,9%	97,2%	84,1%	82,0%	97,4%
Arg16571 G8P[8] (2018)	86,6%	83,9%	96,3%	-	99,3%	83,6%	83,9%	83,8%	83,4%	96,4%	83,9%	82,7%	96,6%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen VP2 [parcial] del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos C se muestran en llaves.

► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen VP2 [parcial] de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

agrupamiento filogenético (*Ultrafast Bootstrap*).

El presente trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas INEVH-ANLIS “Dr. Julio Maiztegui”, bajo el protocolo INEVH 07/2019.

**Resultados**

**Descripción general de la población bajo estudio**

De acuerdo con los criterios de inclusión, se seleccionaron dos muestras que representaron las asociaciones

inusuales (Arg15957 y Arg16571 para G9P[4] y G8P[8], respectivamente) y 11 muestras de combinaciones G-/P-comunes [G2P[4], G3P[8], G9P[8] y G12P[8]], que circularon entre los años 2016 y 2019 (Tabla 1). No se observaron subpoblaciones virales de una misma asociación para un determinado año.

**Constelaciones genómicas**

Las constelaciones genómicas de las cepas emergentes fueron G9P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E6-H2 y G8P[8]-I2-

**Figura 6.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen VP3.



**B)**

Identidad Nt	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15620 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15787 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	86,8%	-	85,9%	77,2%	76,0%	77,2%	76,4%	76,3%	86,2%	76,8%	76,5%	86,6%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	86,8%	97,3%	77,3%	76,7%	77,3%	77,0%	75,2%	95,6%	77,1%	76,6%	95,9%

Identidad AA	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15620 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15787 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	86,8%	-	85,9%	77,1%	76,0%	77,1%	76,6%	76,3%	86,5%	76,7%	76,4%	86,6%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	86,8%	97,4%	77,3%	76,7%	77,3%	77,0%	75,2%	95,7%	77,1%	76,6%	95,9%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen VP3 [parcial] del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos M se muestran en llaves.

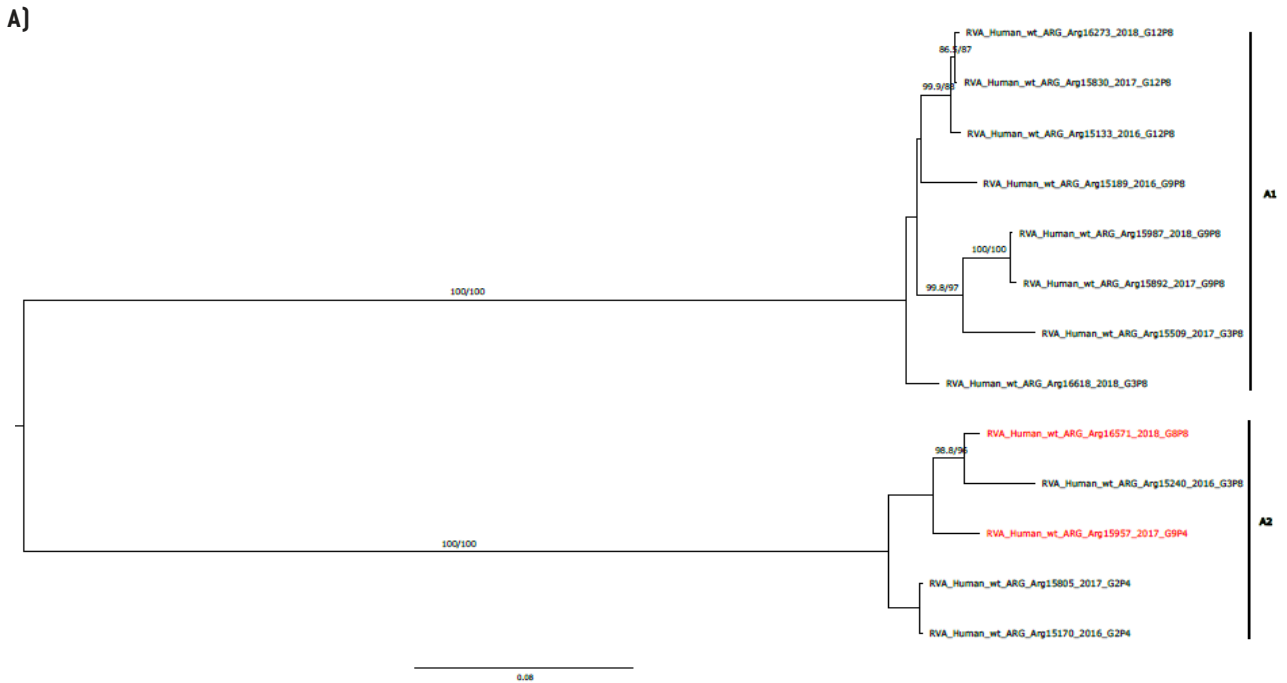
► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen VP3 [parcial] de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2. Por otra parte, en todas las asociaciones comunes, se observaron constelaciones puras: las cepas G2P[4] presentaron una constelación I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2 y las cepas G3P[8], G9P[8] y G12P[8] poseían una disposición característica del genotipo 1 [I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1]. Llamativamente, 1 sola muestra [Arg15240], detectada en el año 2016, presentó la combinación G3P[8], pero con una constelación genómica pura del genotipo 2 (Tabla 1).

**Análisis comparativo entre las cepas emergentes y las asociaciones comunes**

En el análisis del gen VP7, se detectaron 5 tipos G: G2, G3, G8, G9 y G12. De acuerdo con lo esperado por representar un genotipo inusual, G8 demostró una identidad promedio en los niveles nucleotídico y aminoacídico de 74,1% y 81,0%, respectivamente y no se agrupó con ninguno de los genotipos considerados comunes en el árbol filogenético (Figura 1). Por otra parte, el genotipo G9 de la asociación G9P[4]

**Figura 7.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen NSP1.



**B)**

Identidad Nt	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	96,9%	-	95,2%	74,6%	74,0%	74,4%	73,9%	74,6%	74,2%	95,9%	74,4%	73,9%	95,9%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	96,9%	97,2%	74,8%	74,1%	74,7%	74,1%	74,7%	74,3%	95,9%	74,5%	74,4%	95,9%

Identidad AA	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	96,8%	-	94,4%	74,2%	73,7%	74,0%	73,7%	74,2%	74,2%	95,8%	74,1%	73,4%	95,8%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	96,8%	96,8%	74,1%	73,7%	74,2%	73,7%	74,1%	74,0%	95,8%	74,1%	73,7%	95,9%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen NSP1 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética [sustituciones de nucleótidos por sitio]. Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos A se muestran en llaves.

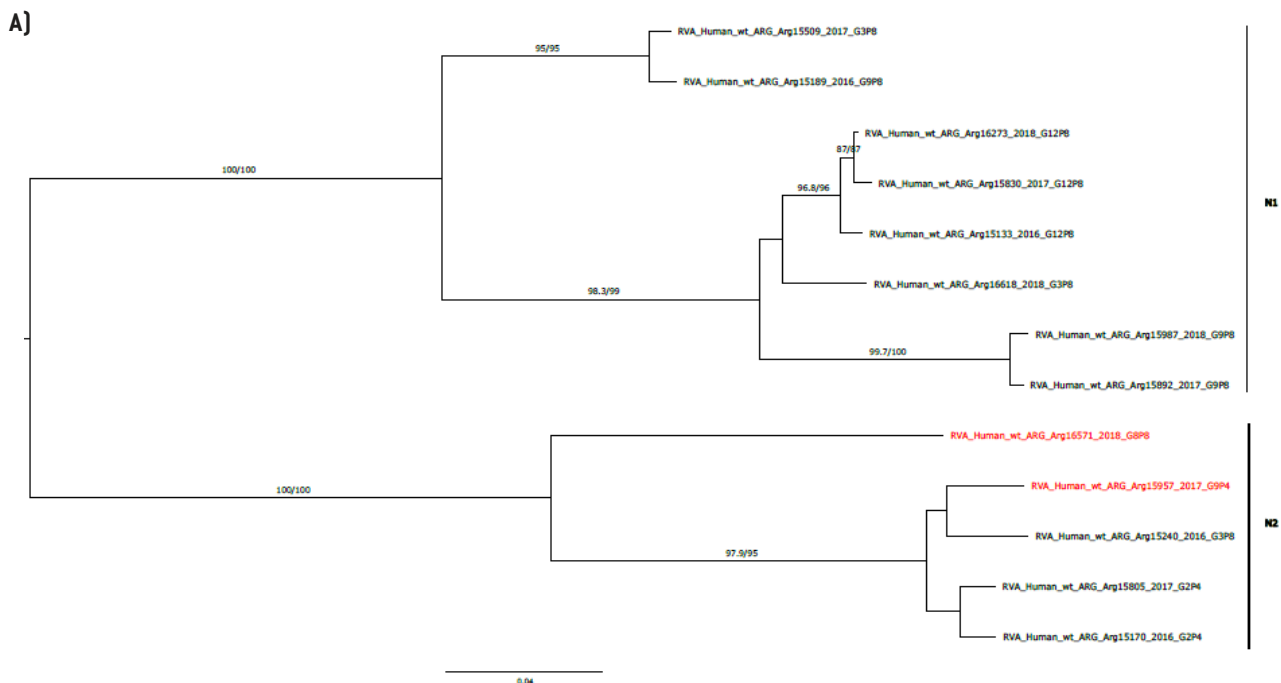
► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen NSP1 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

se agrupó con la cepa Arg15189 [G9P[8]] que circuló en el año 2016. Asimismo, entre ellas se observó la mayor similitud, con una identidad de 96,6% en el nivel nucleotídico y también aminoacídico (Figura 1). Con respecto al análisis comparativo de la secuencia de aminoácidos, se identificaron diez cambios aminoacídicos, de los cuales solo uno corresponde a un sitio antigénico (E125K).

Por otra parte, en el análisis de VP4 se detectaron 2 tipos P: P[4] y P[8]. Se observó que la P[4] detectada en el 2017 se agrupa con 2 cepas asociadas con el genotipo G2: una que circuló ese mismo año (Arg15805), y otra detec-

tada el año anterior (Arg15170). Sin embargo, con la que presentó mayor similitud en el nivel nucleotídico y el aminoacídico fue con Arg15170, con identidades nucleotídicas de 97,4% y aminoacídicas de 97,3%, respectivamente. El análisis de las secuencias de aminoácidos reveló siete diferencias, de las cuales solo una corresponde a un sitio antigénico (Q114P). Por otro lado, la P[8] se agrupó con una G3P[8], Arg15240, que circuló en nuestro país en el 2016, con una similitud nucleotídica y aminoacídica de 98,9% y 97,9%, respectivamente (Figura 2). En este caso, solo se identificaron 3 cambios de aminoácidos entre am-

**Figura 8.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen NSP2.



**B)**

Identidad Nt	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	86,4%	-	96,2%	82,5%	82,0%	81,6%	82,3%	81,5%	82,8%	96,1%	81,3%	82,7%	96,1%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	86,4%	86,7%	82,2%	81,6%	81,8%	81,8%	81,4%	83,4%	86,3%	81,6%	83,5%	87,0%
Identidad AA	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	85,5%	-	96,0%	80,5%	80,4%	79,6%	80,6%	79,3%	81,4%	95,4%	79,7%	81,4%	95,7%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	85,5%	85,8%	81,1%	80,3%	80,1%	80,1%	79,8%	82,5%	85,5%	80,4%	82,8%	86,0%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen NSP2 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap [ $>85$ ] a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética [sustituciones de nucleótidos por sitio]. Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos N se muestran en llaves.

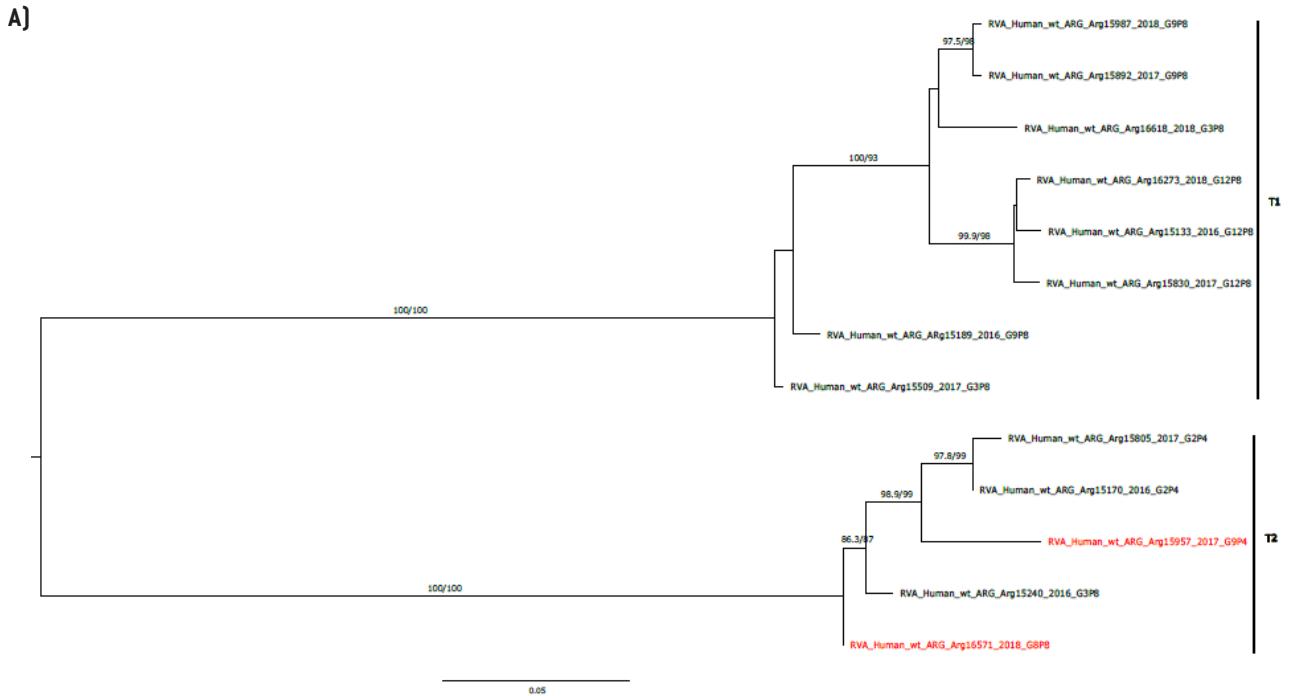
► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen NSP2 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

bas secuencias, de los cuales uno se relaciona con un sitio antigénico [G195D].

Con respecto al resto de los 9 segmentos genómicos, se observaron algunas similitudes en el patrón de agrupamientos. En los árboles filogenéticos de los genes VP6, VP3, NSP3 y NSP5, la cepa G8P[8] se agrupó en un clado separado del resto de las cepas que también poseían el genotipo I2, M2, T2 y H2, respectivamente [Figuras 3, 6, 9 y 11]. Desafortunadamente, no se pudo asignar el tipo M de la cepa Arg16618 debido a que, luego de múltiples intentos, no fue posible amplificar el gen VP3. De cualquier

manera, la cepa emergente presentó mayor identidad en el nivel nucleotídico y de aminoácidos para estos cuatro genes con la cepa G3P[8] Arg15240 que circuló en el año 2016. Por el contrario, en la cepa G9P[4], se observó una relación evolutiva más cercana a las cepas G2P[4] en estos genes. En términos de similitud, en los genes NSP3 y NSP5 se observó la mayor identidad con la cepa G2P[4] Arg15170 que circuló en el año 2016. Sin embargo, llamativamente, en los genes VP6 y VP3, la cepa G9P[4] mostró mayor similitud nucleotídica y aminoacídica con la otra asociación emergente, G8P[8] [Figuras 3, 6, 9 y 11].

**Figura 9.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen NSP3.



**B)**

Identidad Nt	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg1518 9 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	95,4%	-	95,1%	76,3%	77,1%	76,4%	77,1%	75,7%	77,5%	95,0%	76,7%	77,3%	95,8%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	95,4%	98,7%	78,2%	79,0%	78,3%	79,1%	77,7%	79,6%	96,1%	78,0%	79,6%	96,8%

Identidad AA	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg1518 9 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	95,3%	-	95,1%	76,2%	76,9%	76,1%	76,9%	75,5%	77,3%	95,1%	76,5%	77,1%	95,9%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	95,3%	98,7%	78,0%	78,8%	78,0%	78,9%	77,5%	79,3%	96,2%	77,8%	79,4%	96,8%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen NSP3 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos T se muestran en llaves.

► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen NSP3 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

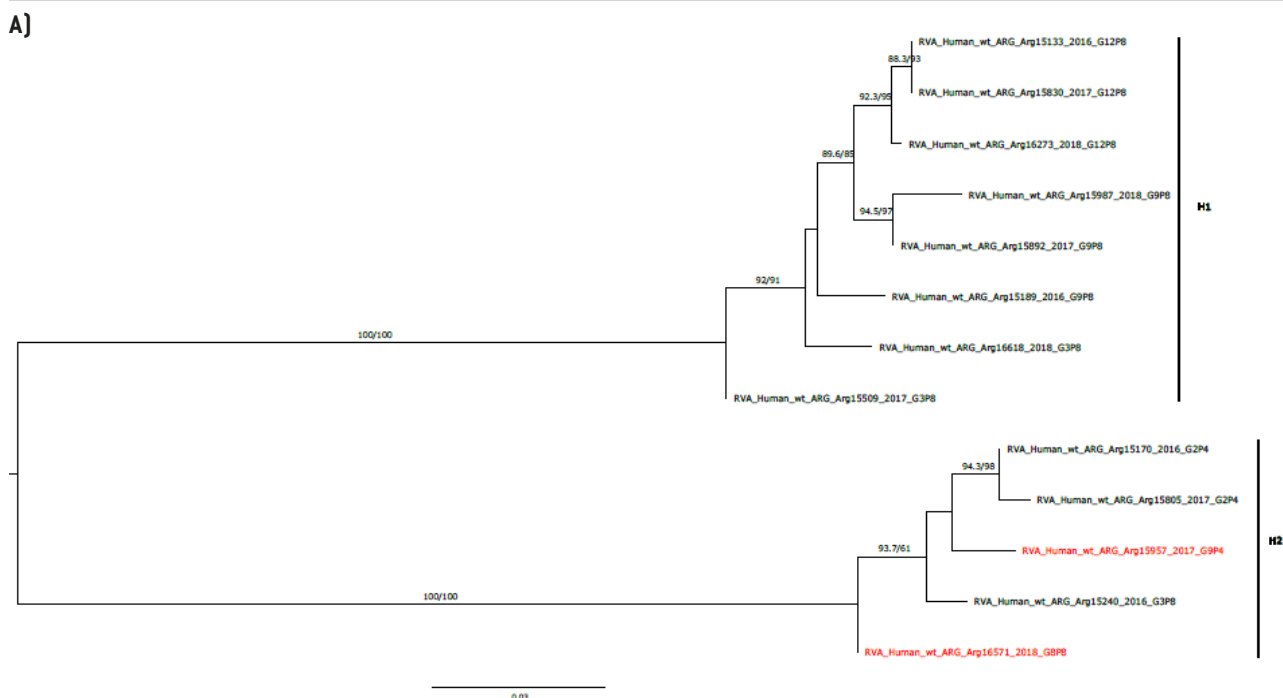
El análisis del gen VP1 mostró un patrón de agrupamiento distinto. Si bien G8P[8] se agrupó en un clado separado de las otras cepas con genotipo R2, se observó que G9P[4] se agrupó junto con las cepas G2P[4] y G3P[8] (Figura 4). Esto también se observó analizando el gen NSP2 (Figura 8). Las mayores similitudes en VP1 se encontraron con la cepa Arg15805 [G2P[4]] y la cepa Arg15240 [G3P[8]] para G9P[4] y G8P[8], respectivamente (Figura 4). Con respecto a NSP2, tanto la cepa G8P[8] como la cepa G9P[4] presentaron el mayor porcentaje de similitud con

la cepa G3P[8] Arg15240 (Figura 8).

Los árboles filogenéticos de los genes VP2 y NSP1 demostraron que tanto G8P[8] como G9P[4] se agruparon en el mismo subclado del genotipo C2 y A2, respectivamente, junto con la cepa Arg15240 [G3P[8]] del año 2016 (Figuras 5 y 7). Sin embargo, el análisis de identidad demostró que solo la cepa G8P[8] presentó el mayor porcentaje de similitud con la cepa Arg15240, mientras que G9P[4] tuvo mayor similitud con las cepas G2P[4] (Figuras 5 y 7).

Por último, el estudio del gen NSP4 demostró la presen-

**Figura 10.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen NSP4.



**B)**

Identidad Nt	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	82,5%	-	81,3%	82,6%	81,4%	81,5%	81,2%	81,7%	81,7%	80,8%	81,9%	81,1%	80,8%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	82,5%	95,2%	81,6%	81,8%	81,5%	81,4%	81,5%	82,5%	89,3%	82,2%	81,7%	89,1%
Identidad AA	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16273 G12P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)
Arg15957 G9P[4] (2017)	81,8%	-	81,0%	82,1%	80,7%	80,9%	80,6%	81,0%	81,2%	80,3%	81,2%	80,3%	80,9%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	81,8%	95,3%	81,2%	81,0%	80,8%	80,8%	80,7%	81,8%	88,7%	81,3%	80,8%	89,1%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen NSP4 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos E se muestran en llaves.

► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico [nt] y aminoacídico [aa] del gen NSP4 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes.

cia de 3 tipos E: E1, E2 y E6. Nuevamente, el genotipo de la G9P[4] (E6) no se agrupó con ninguna de las secuencias de las cepas comunes por representar un genotipo distinto. En cambio, se observó que la cepa G8P[8] estaba más cercanamente relacionada con la cepa Arg15240 (G3P[8]) tanto en términos evolutivos como en la identidad nucleotídica y aminoacídica (Figura 10).

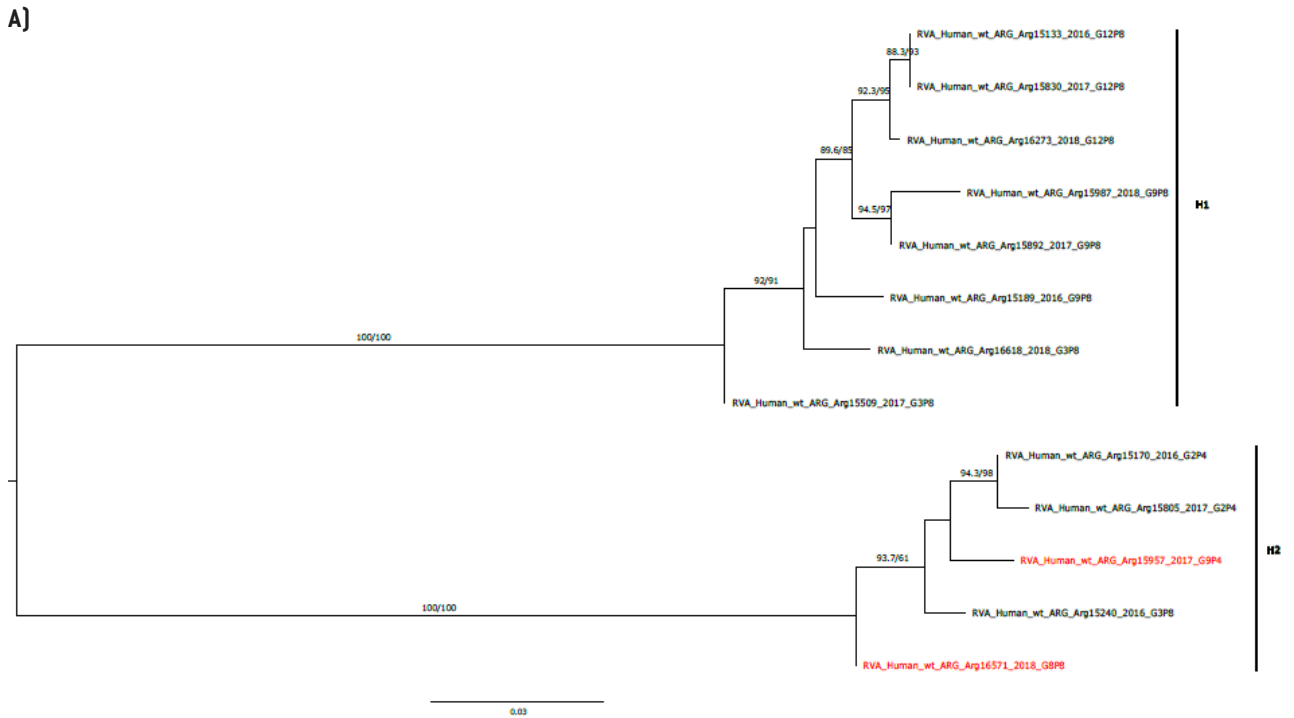
**Discusión**

El presente estudio analizó la constelación genética de las cepas inusuales G9P[4] y G8P[8], junto con otras asociaciones comunes que circularon contemporáneamente.

Este abordaje resulta de utilidad para conocer si existieron potenciales eventos de reordenamiento que les hayan permitido a estas cepas emergentes adquirir adaptabilidad y expliquen su circulación en moderada frecuencia<sup>12,27</sup>

G8P[8] se relacionó mayoritariamente con una cepa G3P[8]-equine like que circuló en el año 2016. Por otra parte, G9P[4] demostró tener mayor heterogeneidad en su identidad, aunque principalmente se observó que está más evolutivamente relacionada con cepas G2P[4]. De cualquier manera, en ninguno de los once segmentos se alcanzó una similitud por encima del 99%. Estos resultados indican que

**Figura 11.** Análisis filogenético y matriz de distancias del gen NSP5.



**B)**

Identidad Nt	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg16273 G12P[8] (2018)
Arg15957 G9P[4] (2017)	97,7%	84,3%	98,3%	84,3%	98,0%	84,4%	97,8%	84,3%	82,9%	84,4%	84,0%	-	84,4%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	83,3%	97,8%	84,1%	98,3%	83,8%	97,2%	83,3%	81,8%	84,0%	82,9%	97,7%	83,3%

Identidad AA	Arg16571 G8P[8] (2018)	Arg15133 G12P[8] (2016)	Arg15170 G2P[4] (2016)	Arg15189 G9P[8] (2016)	Arg15240 G3P[8] (2016)	Arg15509 G3P[8] (2017)	Arg15805 G2P[4] (2017)	Arg15830 G12P[8] (2017)	Arg15987 G9P[8] (2018)	Arg16618 G3P[8] (2018)	Arg15892 G9P[8] (2017)	Arg15957 G9P[4] (2017)	Arg16273 G12P[8] (2018)
Arg15957 G9P[4] (2017)	96,5%	77,9%	97,4%	77,6%	96,8%	77,9%	97,1%	77,9%	77,1%	77,9%	77,4%	-	77,9%
Arg16571 G8P[8] (2018)	-	76,7%	96,8%	77,6%	97,7%	77,0%	96,6%	76,7%	75,9%	77,6%	76,1%	96,5%	76,7%

► a) Árbol filogenético de máxima verosimilitud del gen NSP5 del rotavirus de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8], y de cepas de asociaciones comunes que circularon durante el período 2016-2018 en Argentina. Se muestran los valores de Ultrafast Bootstrap (>85) a partir de 10.000 réplicas en los nodos. Las barras de escala indican la distancia genética (sustituciones de nucleótidos por sitio). Las cepas emergentes se indican en color rojo y los distintos tipos H se muestran en llaves.

► b) Tabla de porcentaje de identidad en los niveles nucleotídico (nt) y aminoacídico (aa) del gen NSP5 de las cepas emergentes G9P[4] y G8P[8] con respecto a las cepas de asociaciones comunes

estas asociaciones no adquirieron segmentos de las cepas comunes locales. Por lo tanto, la emergencia de G9P[4] y G8P[8] fue producto de una nueva introducción. En este sentido, estudios previos realizados solamente con el gen VP7 revelaron que ambas combinaciones inusuales mostraron mayor identidad con cepas que fueron identificadas circulando en Europa y el sudeste asiático<sup>25</sup>. Estos resultados extienden esta observación a los otros diez segmentos genómicos restantes.

El análisis integral de las constelaciones genéticas ha

permitido determinar que hay combinaciones de proteínas que funcionan mejor que otras y que le brindan al virus mayor adaptabilidad y eficiencia en su diseminación<sup>10,27</sup>. Este fenómeno, denominado *ligamiento genético*, se observa en las cepas emergentes detectadas. En primer lugar, no se observaron constelaciones mixtas entre los genotipos 1 y 2. G9P[4] es una combinación de un tipo G y un tipo P, a los que habitualmente se los asocia con orígenes evolutivos distintos (*Wa-like* y *DS-1-like*, respectivamente). Sin embargo, la presencia de una constelación asociada al genotipo 2

indicaría que la vinculación genética más favorable estuvo determinada por el tipo P. Por otra parte, G8P[8] retrata un escenario inverso: un tipo G asociado a un origen *DS-1-like* y un tipo P a *Wa-like*. Pero, en este caso, este tipo P ya ha demostrado asociarse con constelaciones genéticas puras del genotipo 2 de forma eficiente<sup>28,29</sup>, por lo que podría extenderse la hipótesis de una configuración genética determinada por el gen VP4 (tipo P).

Si bien la estrategia de vacunación universal resultó ser exitosa en términos de reducir la carga de enfermedad diarreica en los menores de 5 años, la detección de estos nuevos emergentes, genéticamente distantes de la cepa vacunal, en los casos residuales, sugiere el papel que las vacunas cumplen en la presión selectiva. Asimismo, la creciente frecuencia con la que se identifican las asociaciones inusuales *DS-1-like* demuestran que pudieron haber desarrollado mecanismos más eficientes de diseminación, en un contexto de disminución de poblaciones susceptibles a cepas *Wa-like*. Por lo tanto, este análisis representa un punto de partida para futuros estudios de adaptabilidad de este tipo de emergentes.

El presente trabajo contempla algunas limitaciones. En primer lugar, si bien se exploró la diversidad de cada asociación para el período de estudio, no se descarta que circulen distintas variantes de la misma asociación tipo G/P en una misma temporada. Del mismo modo, en este estudio, se contemplaron las cepas circulantes detectadas entre 2016 y 2018. Por lo tanto, podría esperarse que algunos de los segmentos de la constelación de las cepas inusuales pudieran haberse adquirido de otras que circularon con anterioridad y persistieron en la población de forma críptica.

De cualquier manera, los resultados obtenidos en este estudio son de gran utilidad, ya que aportan evidencia de la compleja dinámica de la circulación de los genotipos de RVA en nuestro país. Además, contribuyen con información sustancial para los responsables implicados en la toma de decisiones respecto del impacto de la vacuna contra nuevos emergentes. Se considera necesario analizar en profundidad estos eventos evolutivos en el marco de una vigilancia local y continua de la diversidad genética luego de esta intervención para analizar su impacto en la población pediátrica no solo desde el punto de vista clínico, sino también de la ecología viral.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a los integrantes de la Red Nacional de Vigilancia por Laboratorios de Gastroenteritis Virales por su participación en la recolección de muestras clínicas y su compromiso con la vigilancia epidemiológica de rotavirus.

### Conflictos de interés

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Organización Mundial de la Salud. Centro de prensa. Enfermedades diarreicas. 2009; nota descriptiva n° 330. [Acceso: 4 de junio de 2012]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>
- Tate JE, Burton AH, Bosch I, Pinto C, Steele AD, Duque J, et al. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2012;12(2):136-141, [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(11\)70253-5](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(11)70253-5)
- Ministerio de Salud de la Nación. Boletín Epidemiológico Anual 2010. Argentina, 2011. [Acceso: 4 de junio de 2012]. Disponible en [http://msal.gov.ar/hm/site/sala\\_situacion/PANELES/bep-anual-2010/BE-PANUAL\\_2010.pdf](http://msal.gov.ar/hm/site/sala_situacion/PANELES/bep-anual-2010/BE-PANUAL_2010.pdf)
- Degiussepe JI, Giovacchini C, Stupka JA; Red Nacional de Vigilancia de Gastroenteritis Virales. 2013. Rotavirus epidemiology and surveillance in Argentina: 2009 - 2011 *Arch Arg Pediatr* 2013;111(2):148-54, <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2013.148>
- Greenberg HB, Estes MK. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. *Gastroenterology*. 2009; 136(6):1939-51, <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.02.076>
- Matthijnssens J, Ciarlet M, McDonald SM, Attoui H, Bányai K, Brister JR, et al. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). *Arch Virol*. 2011; 156(8):1397-413, <https://doi.org/10.1007/s00705-011-1006-z>
- Trojnar E, Sachsenröder J, Twardziok S, Reetz J, Otto PH, Johne R. Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses. *J Gen Virol*. 2013; 94(Pt 1):136-142, <https://doi.org/10.1099/vir.0.047381-0>
- Degiussepe JI, Beltramino JC, Millán A, Stupka JA, Parra GI. Complete genome analyses of G4P[6] rotavirus detected in Argentinean children with diarrhoea provides evidence of interspecies transmission from swine. *Clin Microbiol Infect*. 2013; 19(8):E367-71, <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12216>
- Martella V, Banyai K, Matthijnssens J, Buonavoglia C, Ciarlet M. 2009. Zoonotic aspects of rotaviruses. *Vet Microbiol*. 2010;140(3-4):246-255, <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.028>
- McDonald SM, Matthijnssens J, McAllen JK, Hine E, Overton L, Wang S, et al. Evolutionary dynamics of human rotaviruses: balancing reassortment with preferred genome constellations. *PLoS Pathog*. 2009; 5(10):e1000634, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000634>
- Desselberger U. Genome rearrangements of rotaviruses. *Arch Virol Suppl*. 1996;12:37-51, [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6553-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6553-9_5)
- Matthijnssens J, Ciarlet M, Heiman E, Arijis I, Delbeke T, McDonald SM, et al. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. *J Virol*. 2008; 82(7):3204-19, <https://doi.org/10.1128/jvi.02257-07>
- Matthijnssens J, Van Ranst M. Genotype constellation and evolution of group A rotaviruses infecting humans. *Curr Opin Virol*. 2012; 2(4):426-33, <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.04.007>
- Matthijnssens J, Bilcke J, Ciarlet M, Martella V, Bányai K, Rahman M, et al. Rotavirus disease and vaccination: impact on genotype diversity. *Future Microbiol*. 2009; 4(10):1303-16, <https://doi.org/10.2217/fmb.09.96>
- World Health Organization. Rotavirus vaccines: an update. *Weekly Epidemiological Record* 84, 533 – 540 2009.
- Ruiz-Palacios GM, Pérez-Schael I, Velázquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al; Human Rotavirus Vaccine Study Group. Safety and efficacy of an attenuated vaccine against severe rotavirus gastroenteritis. *N Engl J Med*. 2006;354(1):11-22, <https://doi.org/10.1056/nejmoa052434>
- Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al; Rotavirus Efficacy and Safety Trial (REST) Study Team. Safety and efficacy of a pentavalent human-bovine (WC3) reassortant rotavirus vaccine. *N Engl J Med*. 2006 5;354(1):23-33, <https://doi.org/10.1056/nejmoa052664>
- Velázquez RF, Linhares AC, Muñoz S, Seron P, Lorca P, DeAntonio R, et al. Efficacy, safety and effectiveness of licensed rotavirus vaccines: a systematic review and meta-analysis for Latin America and the Caribbean. *BMC Pediatr*. 2017;17(1):14, <https://doi.org/10.1186/s12887-016-0771-y>
- de Oliveira LH, Danovaro-Holliday MC, Sanwogou NJ, Ruiz-Matus C,

- Tambini G, Andrus JK. Progress in the introduction of the rotavirus vaccine in Latin America and the Caribbean: four years of accumulated experience. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30(1 Suppl):S61-6, <https://doi.org/10.1097/inf.0b013e3181fefdd6>
20. Kirkwood CD, Boniface K, Barnes GL, Bishop RF. Distribution of rotavirus genotypes after introduction of rotavirus vaccines, Rotarix® and RotaTeq®, into the National Immunization Program of Australia. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30(1 Suppl):S48-53, <https://doi.org/10.1097/inf.0b013e3181fef90>
21. Hull JJ, Teel EN, Kerin TK, Freeman MM, Esona MD, Gentsch JR, et al; National Rotavirus Strain Surveillance System. United States rotavirus strain surveillance from 2005 to 2008: genotype prevalence before and after vaccine introduction. *Pediatr Infect Dis J.* 2011; 30(1 Suppl):S42-7, <https://doi.org/10.1097/inf.0b013e3181fef78>
22. Gurgel RQ, Cuevas LE, Vieira SC, Barros VC, Fontes PB, Salustino EF, et al. Predominance of rotavirus P[4]G2 in a vaccinated population, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(10):1571-3, <https://doi.org/10.3201/eid1310.070412>
23. Zeller M, Rahman M, Heylen E, De Coster S, De Vos S, Arijis I, et al. Rotavirus incidence and genotype distribution before and after national rotavirus vaccine introduction in Belgium. *Vaccine.* 2010 3;28(47):7507-13, <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.09.004>
24. Degiuseppe JI, Stupka JA. First assessment of all-cause acute diarrhoea and rotavirus-confirmed cases following massive vaccination in Argentina. *Epidemiol Infect.* 2018; 146(15):1948-1954, <https://doi.org/10.1017/s0950268818001954>
25. Degiuseppe JI, Stupka JA; Argentinean Rotavirus Surveillance Network. Emergence of unusual rotavirus G9P[4] and G8P[8] strains during post vaccination surveillance in Argentina, 2017-2018. *Infect Genet Evol.* 2021;93:104940, <https://doi.org/10.1016/j.mee-gid.2021.104940>
26. Fujii Y, Shimoike T, Takagi H, Murakami K, Todaka-Takai R, Park Y, et al. Amplification of all 11 RNA segments of group A rotaviruses based on reverse transcription polymerase chain reaction. *Microbiol Immunol.* 2012;56(9):630-8, <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00479.x>
27. Heiman EM, McDonald SM, Barro M, Taraporewala ZF, Bar-Magen T, Patton JT. Group A human rotavirus genomics: evidence that gene constellations are influenced by viral protein interactions. *J Virol.* 2008; 82(22):11106-16, <https://doi.org/10.1128/jvi.01402-08>
28. Mwangi PN, Mogotsi MT, Rasebotsa SP, Seheri ML, Mphahlele MJ, Ndze VN, et al. Uncovering the First Atypical DS-1-like G1P[8] Rotavirus Strains That Circulated during Pre-Rotavirus Vaccine Introduction Era in South Africa. *Pathogens.* 2020; 9(5):391, <https://doi.org/10.3390/pathogens9050391>
29. Tacharoenmuang R, Komoto S, Guntapong R, Upachai S, Singchai P, Ide T, Fukuda S, et al. High prevalence of equine-like G3P[8] rotavirus in children and adults with acute gastroenteritis in Thailand. *J Med Virol.* 2020;92(2): 174-186, <https://doi.org/10.1002/jmv.25591>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución- No Comercial- Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir [copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato] y adaptar [remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra] siempre que: se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Verificación e implementación de los métodos de $\beta$ -hidroxibutirato y ácidos grasos libres no esterificados en un equipo automatizado

*Verification and implementation of the  $\beta$ -hydroxybutyrate and non-esterified free fatty acid methods in automated equipment*

Bariandarán, Aldana<sup>1\*</sup>; Chilelli, Carla<sup>1</sup>; Barbieri, Alejandra<sup>1</sup>; Piñeiro, Natalia<sup>1</sup>; Gosis, Ramiro<sup>1</sup>; Rodiño, Alejandra<sup>1</sup>; Fernandez, Gabriela<sup>1</sup>; D'Isa, Gabriela<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Química Clínica, Laboratorio Central, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: Bariandarán, Aldana. Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", C1245AAM; aldibariandaran@gmail.com

## Resumen

**Introducción:** El  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ OH) y los ácidos grasos libres no esterificados (NEFA) son medidos para el estudio de las enfermedades metabólicas e hipoglucemias. Además, la medición de  $\beta$ OH en suero es útil para hiperglucemias y control de dietas cetogénicas. La verificación debe confirmar que se ha cumplido el desempeño declarado por el fabricante. **Objetivo:** Verificar los métodos cuantitativos de NEFA y  $\beta$ OH. **Materiales y métodos:** Se utilizaron la guías del CLSI EP15-A3 y EP6-A y el autoanalizador de Roche/Cobas 501. **Resultados:** Se observó lo siguiente: a) Condiciones de repetibilidad NEFA: nivel 1 (N1): coeficiente de variación 0,60% y nivel 2 (N2): 0,62%. N1  $\beta$ OH: 1,54% y N2 0,56%; b) Precisión intermedia NEFA: 2,51% N1 y 1,62% N2 y 1,62% N1 y 0,78% N2 para  $\beta$ OH; c) Veracidad NEFA: 0,7 mmol/L N1 y 1,6 mmol/L N2, rangos de verificación 0,55-0,66 mmol/L y 1,38-1,53 mmol/L;  $\beta$ OH 0,3 mmol/L N1 y 2,9 mmol/L N2, rangos de verificación 0,294-0,325 mmol/L y 2,793-2,942 mmol/L. El sesgo de la estimación de la veracidad fue de 11,85% y 11,98% para NEFA y de 4,83% y 1,92% para  $\beta$ OH; d) Linealidad: hasta 2,4 mmol/L NEFA y hasta 3,23 mmol/l  $\beta$ OH. **Conclusiones:** Se logró verificar la precisión intermedia y en condiciones de repetibilidad para ambos analitos, la veracidad desde el punto de vista clínico, aunque no estadístico, para NEFA y la veracidad clínica y estadística para  $\beta$ OH. Para el NEFA, se verificó la linealidad estadística y clínica y para el  $\beta$ OH, la linealidad clínica.

**Palabras clave:** verificación de métodos,  $\beta$ -hidroxibutirato, ácidos grasos libres no esterificados, especificaciones técnicas.

## Abstract

**Introduction:**  $\beta$ -Hydroxybutyrate ( $\beta$ OH) and non-esterified free fatty acids (NEFA) are measured for the study of metabolic diseases and hypoglycemia, and  $\beta$ OH, in addition, for hyperglycemia and control in ketogenic diets. Verification should confirm that the performance declared by the manufacturer has been met. **Objective:** To verify the NEFA and  $\beta$ OH methods. **Materials and methods:** The CLSI guidelines EP15-A3 and EP6-A were followed. The Roche/Cobas 501 autoanalyzer was used. **Results:** NEFA repeatability conditions were as follows: level 1 (N1) coefficient of variation 0.60% and level 2 (N2) 0.62%. N1  $\beta$ OH 1.54% and N2 0.56%. Intermediate precision: 2.51% N1 and 1.62% N2 for NEFA and 1.62% N1 and 0.78% N2 for  $\beta$ OH. Veracity: 0.7 mmol/L N1 and 1.6 mmol/L N2, verification ranges 0.55-0.66 mmol/L and 1.38-1.53 mmol/L for NEFA; 0.3 mmol/L N1 and 2.9 mmol/L N2, verification ranges 0.294-0.325 mmol/L and 2.793-2.942 mmol/L for  $\beta$ OH. The veracity estimation bias was 11.85% and 11.98% for NEFA and 4.83% and 1.92% for  $\beta$ OH. Linearity was up to 2.4 mmol/L for NEFA and up to 3.23 mmol/l for  $\beta$ OH. **Conclusions:** It was possible to verify precision under repeatability and intermediate conditions for both analytes, veracity from a clinical point of view, although not statistical for NEFA, and clinical and statistical veracity for  $\beta$ OH. Statistical and clinical linearity was verified for NEFA and clinical linearity for  $\beta$ OH.

**Keywords:** method verification,  $\beta$ -hydroxybutyrate, non-esterified free fatty acids, technical specifications.

## Introducción

Los cuerpos cetónicos son pequeñas moléculas sintetizadas principalmente en el hígado a partir de ácidos grasos que circulan por el torrente sanguíneo durante el ayuno, el ejercicio prolongado y cuando se restringen los carbohidratos. Estos son tomados por tejidos que necesitan energía, convertidos primero en acetil-CoA y luego, en ATP. Durante la cetosis, se forman y utilizan tres cuerpos cetónicos principales para obtener energía: acetona, acetoacetato y  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ OH), el cuerpo cetónico más abundante en los mamíferos.<sup>1,2</sup>

La presencia y el grado de cetosis pueden ser determinados midiendo los niveles sanguíneos de  $\beta$ OH. Además, su determinación es útil para el control en dietas cetogénicas. Dicha dieta constituye el tratamiento no farmacológico de eficacia probada más utilizado en la última década para el manejo de la epilepsia refractaria en la población pediátrica. Consiste en un plan alimenticio rico en grasas, adecuado en proteínas y bajo en hidratos de carbono (HC), diseñado para producir cetosis e imitar los cambios metabólicos que ocurren durante el ayuno.<sup>3-5</sup>

Los ácidos grasos no esterificados (NEFA) son medidos en el laboratorio para el estudio de enfermedades metabólicas e hipoglucemias y se utilizan para evaluar la síntesis de estos ácidos en diferentes situaciones de ayuno. En el laboratorio del estudio, al formar parte de un hospital pediátrico de alta complejidad, estas determinaciones son solicitadas de forma habitual.

La norma IRAM-ISO 15189:2023 establece que los procedimientos analíticos validados por el fabricante, utilizados sin modificaciones, deben estar sujetos a la verificación independiente por parte del laboratorio antes de

ser introducidos en el uso rutinario. En la misma norma, se establece que el laboratorio debe disponer de un procedimiento para verificar que puede realizar correctamente los métodos de análisis antes de comenzar a utilizarlos, asegurando que se puede alcanzar el desempeño requerido, según lo declarado por el fabricante o el método. El Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) provee guías de verificación con protocolos accesibles al laboratorio de rutina. La CLSI EP15-A3 está diseñada para la verificación de precisión y veracidad de un método que previamente fue validado por el fabricante, mientras que la CLSI EP6-A se utiliza para verificar linealidad. La implementación de ambas le permite al laboratorio, mediante el aporte de evidencia objetiva (en forma de características de desempeño), demostrar que se ha cumplido con los requisitos especificados por el fabricante para el procedimiento analítico y así habilitar su uso en la práctica diaria.<sup>6-7</sup>

Los reactivos disponibles que se comercializan actualmente para ambos analitos son para uso manual, con la posibilidad de adaptación a la automatización, lo que genera, por un lado, mayor demanda de personal, de tiempo y de costos, y, por otro, una mayor probabilidad de error a la hora de realizar la determinación debido a la variación intra e interoperador de la técnica. Es por eso que se planteó como objetivo realizar la verificación de la precisión, veracidad y linealidad de los métodos de medición de NEFA y  $\beta$ OH de acuerdo con especificaciones internacionales de guías publicadas por el CLSI, en un equipo automatizado de química clínica de un hospital pediátrico de alta complejidad para su posterior implementación en la rutina asistencial.

**Tabla I.** Precisión estadística intralaboratorio e intracorrida de NEFA y  $\beta$ OH para ambos niveles evaluados

Nivel	CV en condiciones de repetibilidad (%)	CV en condiciones de repetibilidad del fabricante (%)	CV en condiciones de precisión intermedia (%)	CV en condiciones de precisión intermedia del fabricante (%)	¿Aceptado?
NEFA					
1	0,60	4,81	2,51	4,32	Sí
2	0,62	4,74	1,62	4,51	Sí
$\beta$ OH					
1	1,54	1,70	1,62	5,20	Sí
2	0,56	1,40	0,78	1,70	Sí

►  $\beta$ OH:  $\beta$ -hidroxibutirato; NEFA: ácidos grasos libres no esterificados; CV: coeficiente de variación

**Tabla II.** Veracidad estadística de NEFA y  $\beta$ OH para ambos niveles evaluados

Nivel	Media (mmol/L)	Intervalo de verificación (mmol/L)	¿Aceptado?
NEFA			
1	0,7	0,55-0,66	No
2	1,6	1,38-1,53	No
$\beta$ OH			
1	0,3	0,29-0,33	Sí
2	2,9	2,79-2,94	Sí

►  $\beta$ OH:  $\beta$ -hidroxibutirato; NEFA: ácidos grasos libres no esterificados

### Materiales y métodos

Se realizó un estudio experimental, transversal y prospectivo.

### Autoanalizador y reactivos

Se utilizó el autoanalizador de Química Clínica Roche/Cobas 6000 501. Los reactivos usados fueron de RANDOX-CROMOION® para NEFA (lote: 575736, vencimiento: 28/8/2023) y STANBIO Laboratory para  $\beta$ OH (lote: 170558, vencimiento: 31/5/2023). Ambos son métodos cuantitativos y colorimétricos. Para realizar la verificación de la veracidad y precisión de los métodos, se utilizaron muestras del control de calidad externo de RIQAS de dos niveles diferentes (bajo o nivel 1 y alto o nivel 2). Para la linealidad, se utili-

zaron muestras de pacientes de concentración elevada: 2,4 mmol/L para NEFA y 3,23 mmol/L para  $\beta$ OH.

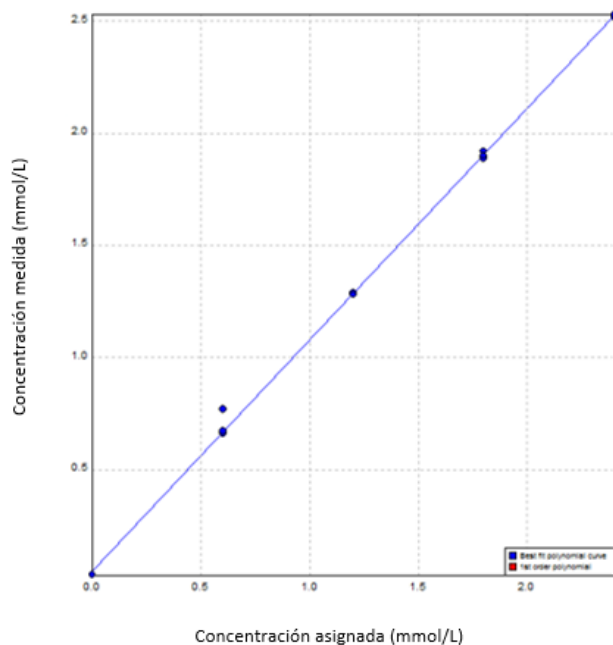
### Procedimientos de verificación

Se utilizaron las guías del CLSI: la EP15-A3, para verificación de precisión intermedia (intralaboratorio) y repetibilidad (intracorrida), medidas como coeficiente de variación (CV), y para evaluar veracidad, medida en términos del sesgo o error sistemático. Se realizaron mediciones por quintuplicado durante cinco días consecutivos de los dos materiales de control externo de RIQAS.<sup>8</sup> Las muestras seleccionadas tienen concentraciones que representan niveles de decisión médica, para  $\beta$ OH: 0,3 mmol/L (nivel 1) y 2,9

**Tabla III.** Veracidad clínica de NEFA y  $\beta$ OH para ambos niveles evaluados.

Nivel	Sesgo (%)	Error sistemático aceptado (%)	¿Aceptado?
NEFA			
1	11,85	14,5	Sí
2	11,98	14,5	Sí
$\beta$ OH			
1	4,83	5,35	Sí
2	1,92	5,35	Sí

►  $\beta$ OH:  $\beta$ -hidroxibutirato; NEFA: ácidos grasos libres no esterificados

**Figura 1.** Linealidad NEFA: concentración medida contra concentración asignada.

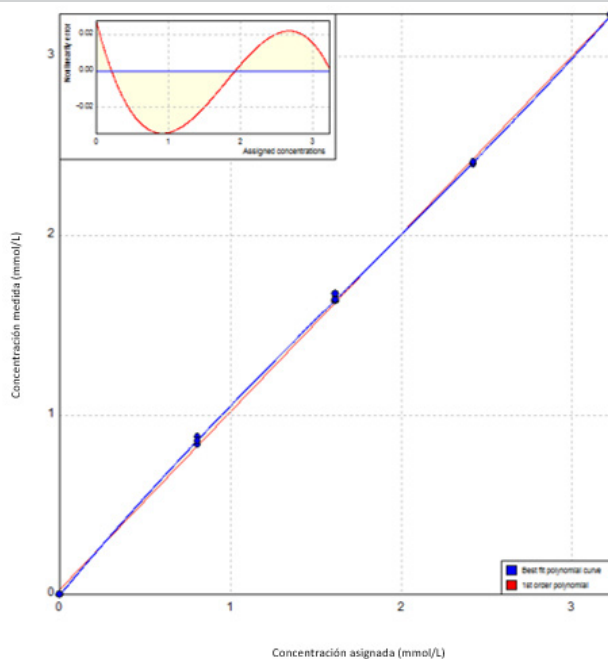
► Ecuación de la recta:  $y=0,04933 + 1,033 x$

mmol/L [nivel 2], siendo el intervalo de referencia utilizado en nuestro laboratorio 0,03–0,3 mmol/L, y para NEFA: 0,7 mmol/L [nivel 1] y 1,6 mmol/L [nivel 2], siendo el intervalo de referencia utilizado en nuestro laboratorio 0,1–0,9 mmol/L. Ambos intervalos de referencia son los reportados en la bibliografía.

Se usaron las mismas muestras para precisión y veracidad utilizando los mismos resultados obtenidos en el protocolo de precisión para el protocolo de veracidad.

Para ninguno de los dos mensurandos, existen valores de variabilidad biológica como especificación analítica, es por eso que se seleccionó como requisito de calidad para NEFA el estado del arte: 29%, calculado a partir de 3 por el CV% del grupo interlaboratorio obtenido del reporte RIQAS del grupo que realiza la técnica colorimétrica de punto final. Por otro lado, para  $\beta$ OH, utilizamos como especificación analítica el criterio de aceptación RIQAS: 10,7% [conformado por las desviaciones diana de evaluación del rendimiento de RIQAS, reportado en los informes del control de calidad externo de RIQAS].

Se utilizó la guía CLSI EP6-A para verificar la linealidad. Para realizar el ensayo de linealidad, se prepararon una serie de diluciones a partir de una muestra de suero con concentración elevada. Para NEFA, la linealidad declarada por el fabricante es de 0,072 a 2,4 mmol/L, por lo que se eligió una muestra de 2,4 mmol/L. Para  $\beta$ OH, la linealidad declarada por el fabricante es de 0,0 a 8,0 mmol/L, y la muestra seleccionada fue de 3,23 debido a que es la concentración más alta con la que contamos, dado que no disponemos de muestras de pacientes ni RIQAS ni control comercial de un

**Figura 2.** Linealidad  $\beta$ OH: concentración medida contra concentración asignada.

► Ecuación que mejor se adapta:

$$y = 0,0004143 + 1,145 x - 0,1122 x^2 + 0,02084 x^3$$

nivel semejante a 8,0 mmol/L.<sup>9</sup> Con esa muestra de máxima concentración y una muestra de concentración “cero” [solución fisiológica], se realizaron tres diluciones (25%, 50% y 75%) con valores intermedios equidistantes; cada punto se valoró por triplicado. Para considerar la recta estadísticamente lineal, tiene que darse una ecuación de orden 1, donde el error de no linealidad es cero. En caso de que no sea estadísticamente lineal en el rango evaluado (ecuación de orden 2,3 y 4), se evalúa que sea clínicamente lineal. El error de no linealidad que se mida tiene que ser siempre menor del 50% del requisito de la calidad. Si el error de no linealidad es menor del 50% del requisito de la calidad, podemos decir que el método es clínicamente lineal, a pesar de no ser estadísticamente lineal.

### Análisis de los datos

Para realizar el procesamiento estadístico de los datos, se utilizó una planilla de cálculo de Excel® diseñada para la verificación de los analitos acreditados por nuestro laboratorio por la norma IRAM ISO 15189:2023, disponible en el sistema documental de nuestro laboratorio QBnet, donde se evalúan *outliers* utilizando el método de Grubbs, precisión intracorrida e intralaboratorio y veracidad.

1) *Outliers*: se obtuvieron los límites de Grubbs como: media  $\pm G$  [crítico]\*SD de los 25 datos. Se verificó que todos los valores arrojados en las corridas se encontraran dentro del intervalo hallado. El valor  $G$  [crítico] se obtiene de tabla teniendo en cuenta el  $N$ = número de corridas x número de repeticiones. Para  $N=25$ ,  $G$  [crítico]=3,135.

- 2) Precisión: se compararon los CV% obtenidos en condiciones de repetibilidad y en condiciones de precisión intermedia con los CV% declarados por el fabricante para precisión. Si los CV% hallados eran menores que los del fabricante, la precisión era aceptada. Los CV% propios se obtuvieron realizando el análisis de varianza (ANOVA), un método de prueba de igualdad de tres o más medias poblacionales, por medio del análisis de las varianzas muestrales.
- 3) Veracidad: se estimó el sesgo relativo de la media obtenida por nuestro laboratorio con respecto al valor asignado a los materiales con concentración conocida; la media obtenida de los 25 resultados fue enfrentada al valor asignado del material seleccionado calculando el sesgo. Las muestras seleccionadas cuentan con una estimación de su valor asignado con un error aceptable. En primer lugar, se evaluó el sesgo estimado desde un punto de vista estadístico. Para ello, se calcularon los límites inferior y superior del intervalo de verificación del valor evaluado; si el valor de media obtenida estaba contenido dentro de estos límites la veracidad, se consideraba aceptada. Luego, se evaluó la consistencia de los datos para estudiar el sesgo desde un punto de vista clínico considerando el requisito de la calidad seleccionado para el procedimiento de medida de acuerdo con su uso previsto. Se utilizó como criterio de aceptación el error sistemático (es decir, el 50% de los requisitos de calidad definidos).
- 4) Linealidad: se utilizó el programa LINCHECKER con el que se obtuvieron las gráficas, la ecuación de la curva y el error de no linealidad. El estudio fue realizado cumpliendo con las normas éticas de la institución y de acuerdo con recomendaciones nacionales e internacionales [Declaración de Helsinki]. No se consideró necesaria la aprobación del Comité de Docencia e Investigación, ya que forma parte de los procesos propios de nuestro laboratorio de análisis clínicos.

## Resultados

### Outliers

No se hallaron *outliers* en ninguno de los dos niveles de cada analito evaluado, ya que todas las repeticiones entraron en los límites definidos por el test de Grubbs. Para el nivel 1 de  $\beta$ OH, la media fue de 0,29 mmol/L, con un límite superior de 0,31 mmol/L y un inferior de 0,28 mmol/L. Para el nivel 2, la media fue de 2,92 mmol/L, con un límite superior de 2,99 mmol/L y un inferior de 2,85 mmol/L. Para el nivel 1 de NEFA, la media fue de 0,69 mmol/L, con un límite superior de 0,74 mmol/L y un inferior de 0,64 mmol/L. Para el nivel 2, la media fue de 1,64 mmol/L, con un límite superior de 1,71 mmol/L y un inferior de 1,56 mmol/L.

### Precisión

Los resultados de CV% obtenidos fueron menores que lo especificado por el fabricante, por lo que se dio como aceptada la verificación realizada en los parámetros de precisión intracorrída e intralaboratorio para ambos analitos [Tabla I].

### Veracidad

Para NEFA, el sesgo entre laboratorio y la muestra de concentración conocida fueron rechazados estadísticamente en ambos niveles, por lo que se verificó que el sesgo hallado no sea clínicamente significativo. Para el caso de  $\beta$ OH, el sesgo fue aceptado estadísticamente y clínicamente para los dos niveles. Se logró realizar la verificación de la veracidad para ambos analitos (Tabla II y III).

### Linealidad

En la Figura 1, se muestran los resultados de la linealidad para NEFA y, en la Figura 2, para  $\beta$ OH. Para NEFA, obtuvimos una línea recta (orden 1), lo que quiere decir que el método es estadísticamente lineal. Por ende, un método estadísticamente lineal siempre es clínicamente lineal, porque el error de linealidad es cero. Por otro lado, para  $\beta$ OH (Figura 2) obtuvimos una recta de orden 3, por lo que no podemos decir que es estadísticamente lineal. Sin embargo, el error de no linealidad es de 3,54%, menor del 50% del requisito de calidad definido: 5,35%, por lo que es clínicamente lineal.

### Discusión

La implementación de una nueva técnica en el laboratorio requiere la realización de la verificación, dado que es, además, requisito de la norma IRAM ISO 15189:2023 para la acreditación de un laboratorio. Los ensayos de verificación desempeñan un papel fundamental en la mejora constante de la actividad realizada en el laboratorio garantizando el cumplimiento de los estándares internacionales de calidad y las exigencias de los organismos de acreditación. Además, contribuyen a fortalecer la confiabilidad de los informes generados por los laboratorios de análisis clínico.

La verificación nos permitió la evaluación global de los resultados desde un punto de vista clínico además de estadístico, dado que una ventaja del protocolo EP15-A3 respecto de la versión A2 es que considera el requisito de la calidad para la evaluación global de los resultados.<sup>10,11</sup>

Se verificó la precisión intermedia y en condiciones de repetibilidad para ambos métodos de ambos analitos, ya que los CV% obtenidos para los dos niveles de control fueron menores que los CV% declarados por el fabricante.

La veracidad tanto estadística como clínicamente para  $\beta$ OH fue verificada. Si bien para NEFA la verificación de la veracidad no fue aceptada estadísticamente, sí lo fue clínicamente.

En cuanto a la linealidad, para NEFA, verificamos estadística y clínicamente la linealidad reportada por el fabricante, que alcanza hasta 2,4 mmol/L. Para  $\beta$ OH, aunque no disponemos de una muestra con una concentración tan alta como la declarada por el fabricante (8,0 mmol/L), pudimos confirmar la linealidad clínicamente hasta 3,23 mmol/L. Como proyecto de mejora, nos proponemos reevaluar la linealidad hasta el nivel máximo de 8,0 mmol/L si en el futuro disponemos de una muestra con una concentración cercana a este valor.

Tras evaluar todos los resultados obtenidos, nuestro la-

boratorio dio por verificados ambos métodos, y los implementó en el equipo automatizado de forma rutinaria.

Nuestro hospital realiza alrededor de 460 determinaciones de  $\beta$ OH y 220 de NEFA al año, por lo que automatizar los métodos de ambos analitos nos permite mejorar los tiempos de respuesta y atención de los pacientes optimizando los recursos, disminuyendo la demanda de personal, costos y tiempo. Además, al automatizar las metodologías, disminuimos el error que es inherente a la realización de las técnicas manuales (intra e interoperador) generando mayor confiabilidad y exactitud en los resultados y optimizando la etapa analítica.

La verificación de las especificaciones de desempeño declaradas por el fabricante para precisión y estimación del sesgo según los lineamientos generales de la guía CLSI EP 15 A3 de la CLSI, y la de la linealidad, según la guía EP6-A de ambos mensurandos representó el primer paso en la incorporación de estos a la rutina asistencial del laboratorio mediante equipos automatizados. El siguiente paso consiste en verificar los intervalos de referencia. Sin embargo, dada la naturaleza pediátrica del hospital, esta verificación presenta desafíos cuando se intenta realizar mediante el método directo. Para llevar a cabo la verificación de intervalos de referencia utilizando el método indirecto, se requiere un tamaño muestral mayor del que actualmente se dispone, por lo que se continuará utilizando el rango de referencia de bibliografía consensuado con los servicios médicos.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

### Referencia bibliográficas

- Paoli A. Ketogenic Diet for Obesity: Friend or Foe? *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2014;11:2092–2107, <https://doi.org/10.3390/ijerph110202092>
- Newman JC, Verdin E.  $\beta$ -Hydroxybutyrate: A Signaling Metabolite. *Annu Rev Nutr*. 2017; 37: 51–76, <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064916>
- Albertia MJ, Agustinhob A, Argumedoc L, Armenob M, Blanco V, Bouquet S, et al. Recomendaciones para el manejo clínico pediátrico de la dieta cetogénica en el tratamiento de la epilepsia refractaria. *Arch. argent. Pediatr*. 2016;114(1):56-63, <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2016.56>
- Freeman JM, Kossoff EH, Hartman AL. The ketogenic diet: one decade later. *Pediatrics* 2007;119(3):535-43, <https://doi.org/10.1542/peds.2006-2447>
- Neal EG, Chaffe H, Schwartz RH, Lawson MS, et al. The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol* 2008;7(6):500-6, [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(08\)70092-9](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(08)70092-9)
- Guglielmone R, de Elías R, Kiener O, Collino C, Barzón S. Verificación de métodos en un laboratorio acreditado y planificación del control de calidad interno. *Acta bioquím. clín. latinoam*. 2011 Jun [citado 2024 Ago 05],45(2): 335-347. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572011000200012&lng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572011000200012&lng=es).
- IRAM-ISO 15189. Laboratorios de análisis clínicos Requisitos para la calidad y la competencia. Tercera edición, 2014.
- EP15-A3 User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline—Third Edition [2014].
- EP06-A Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline [2003].
- Abdel Ghafar M, El-Masry M. Verification of Quantitative Analytical Methods in Medical Laboratories. *J Med Biochem*. 2021;40(3):225–236, <https://doi.org/10.5937/jomb0-24764>
- EP15-A2 User Verification of Performance for precision and trueness. Approved Guideline—Second Edition [2005].



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución -No Comercial - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Antígeno prostático específico para el diagnóstico de hiperplasia prostática benigna en pacientes con síntomas de infección del tracto urinario a repetición

*Prostate-specific antigen for the diagnosis of benign prostatic hyperplasia in patients with symptoms of recurrent urinary tract infection*

Luizaga Gómez, Gabriela Telma<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Análisis Clínicos, Dispensario de Salud Juan Pablo II. Oruro, Bolivia.

\*Contacto: Luizaga Gómez, Gabriela. Laboratorio de Análisis Clínicos, Dispensario de Salud Juan Pablo II, Herrera y 6 de octubre # 533. Oruro, Bolivia; luizagagomez@gmail.com

## Resumen

**Introducción:** Las infecciones del tracto urinario secundarias a la hiperplasia prostática benigna se originan porque el agrandamiento prostático produce una obstrucción de la uretra que conduce a la retención de orina en la vejiga. **Objetivo:** Asociar la determinación de antígeno prostático específico con el diagnóstico de hiperplasia prostática benigna en varones que presentan síntomas de infección del tracto urinario en reiteradas ocasiones, a pesar de estar tratados con antibióticos. **Métodos:** Se analizaron 134 expedientes clínicos de varones con edades entre 40 y 60 años y con síntomas de infección del tracto urinario en más de una ocasión, a pesar de estar tratados con antimicrobianos, que asistieron al Dispensario de Salud Juan Pablo II. **Resultados:** Se encontró que el 64,2% de los pacientes presentó hiperplasia prostática benigna y, de ellos, el 75,6 % mostró niveles de antígeno prostático específico mayores de 4 ng/mL. Se halló una asociación estadísticamente significativa entre la hiperplasia prostática benigna y niveles de antígeno prostático específico mayores de 4 ng/mL ( $p < 0,05$ ). La proporción de pacientes con síntomas de infección del tracto urinario a repetición, a pesar de estar en tratamiento con antimicrobianos, que presentaron hiperplasia prostática benigna fue mayor de 0,5 ( $p < 0,05$ ). **Conclusión:** La determinación de antígeno prostático específico es de utilidad en varones entre 40 y 60 años con síntomas de infección del tracto urinario en más de una ocasión, a pesar de estar en tratamiento con antibióticos, para establecer si presentan o no una hiperplasia prostática benigna subyacente.

**Palabras clave:** hiperplasia prostática benigna, antígeno prostático específico, infecciones urinarias.

## Abstract

**Introduction:** Urinary tract infections secondary to benign prostatic hyperplasia occur because the prostate enlargement causes an obstruction of the urethra that leads to urine retention in the bladder. **Objective:** To associate the determination of prostate-specific antigen with the diagnosis of benign prostatic hyperplasia in men with symptoms of urinary tract infections in repeated occasions despite being treated with antibiotics. **Methods:** We analyzed 134 medical records of men aged 40 to 60 years old who presented symptoms of urinary tract infections in more than one occasion despite being under antibiotic treatment, attended at the Centro de Salud Dispensario Juan Pablo II, Oruro, Bolivia. **Results:** We found that 64.2% of the patients presented benign prostatic hyperplasia and that, among them, 75.6% showed prostate-specific antigen levels higher than 4 ng/mL. A statistically significant association was found between benign prostatic hyperplasia and prostate-specific antigen levels higher than 4 ng/mL ( $p < 0.05$ ). The proportion of patients with symptoms of recurrent urinary tract infections despite being under antibiotic treatment who presented benign prostatic hyperplasia was higher than 0.5 ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** The determination of prostate-specific antigen in men aged 40 to 60 years old who present symptoms of urinary tract infections in more than one occasion despite being under antibiotic treatment is useful to establish whether they present or not an underlying benign prostatic hyperplasia.

**Key words:** benign prostatic hyperplasia, prostate-specific antigen, urinary infections.

## Introducción

El antígeno prostático específico (PSA) es una serina proteasa producida por la próstata, una glicoproteína de cadena simple con un peso molecular de 28,4 kDa. Su denominación, PSA, deriva de que es un antígeno normal de la próstata, ya que no se encuentra en ningún otro tejido normal ni maligno<sup>1</sup>. Está presente en el suero en 2 formas distintas: no acompañado (PSA libre; PSA L) y acompañado. Los valores de referencia son inferiores a 1,3 ng/mL para el PSA L y menores de 4 ng/mL para el PSA total (PSA L más PSA acompañado; PSA T)<sup>2,3</sup>. El PSA es el marcador tumoral más empleado para la detección de cáncer de próstata, pero también es útil en el diagnóstico de la hiperplasia prostática benigna (HPB), ya que, en esta patología, sus niveles también aumentan<sup>4</sup>.

La HPB se define como un agrandamiento del tamaño de la próstata debido al aumento del número de células epiteliales y estromales en la zona de transición de la glándula prostática<sup>5</sup>. Es una de las enfermedades más frecuentes en el hombre, con una prevalencia del 50-80%, y constituye un problema de particular importancia en el primer nivel de atención en salud<sup>6</sup>. El volumen de la glándula prostática sufre un crecimiento fisiológico a medida que el hombre envejece, y dicho agrandamiento conlleva la obstrucción de la uretra, lo que ocasiona dificultad para orinar<sup>7</sup>. Sin embargo, estudios recientes señalan la aparición de focos de hiperplasia en el tejido glandular y fibromuscular a partir de los 30 años<sup>8</sup>. Múltiples estudios preclínicos y clínicos han puesto en evidencia que varias alteraciones metabólicas (hipertensión arterial, obesidad, dislipidemia y diabetes) son determinantes importantes tanto en el desarrollo como en la progresión de la HBP, así como también, una dieta rica en hidratos de carbono y grasas, niveles altos de estrés y el sedentarismo. Asimismo, el exceso de cafeína y alcohol empeora los síntomas<sup>9,10</sup>.

La HPB se caracteriza por síntomas obstructivos e irritativos, producidos por el crecimiento de la próstata. Actualmente, la atención se centra en los síntomas por los que consulta el paciente y que están relacionados con las fases de la micción. De ahí que, en la actualidad, los síntomas obstructivos se denominen *de vaciado* (dificultad inicial, goteo posmiccional, intermitencia, esfuerzo) y los síntomas irritativos, *de llenado* (urgencia, frecuencia con flujo débil, nicturia, incontinencia de urgencia e incontinencia de estrés). Además, se han introducido los síntomas posmiccionales (goteo terminal y vaciado incompleto)<sup>11</sup>.

Las infecciones del tracto urinario (ITU) constituyen una entidad clínica de elevada ocurrencia, caracterizada por la invasión de microorganismos en el parénquima renal y/o sus vías de excreción, con o sin la presencia de síntomas. Estas infecciones generan una variedad de síndromes que incluyen: bacteriuria asintomática, síndrome uretral agudo, cistitis, pielonefritis, prostatitis e infecciones urinarias recurrentes. Estas últimas pueden presentar complicaciones, tales como sepsis (de mayor riesgo en personas jóvenes,

adultos de edad muy avanzada y en inmunosuprimidos), pionefrosis y daño renal<sup>12</sup>. Más del 95% de las ITU son monobacterianas, y *Escherichia coli* es el microorganismo más frecuentemente implicado en la infección aguda y en infecciones producidas en pacientes ambulatorios. Sin embargo, en el caso de infecciones recurrentes, en particular, en presencia de anomalías estructurales del aparato urinario, como son anomalías congénitas, vejiga neurogénica y obstrucciones del aparato urinario, las especies implicadas son *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, y *Enterobacter* seguidas de *Enterococcus* y *Staphylococcus*<sup>13</sup>.

Las ITU secundarias a la HPB se originan porque el agrandamiento prostático produce una obstrucción de la uretra que conduce a la retención de orina en la vejiga. Si no se trata la etiología de las ITU, estas podrían derivar en infecciones recurrentes, con las complicaciones mencionadas anteriormente.

Dado que varias de las ITU que se presentan en el hombre son secundarias a una HPB, el objetivo del presente trabajo fue analizar si la determinación del PSA es de utilidad en varones entre 40 y 60 años con síntomas recurrentes de ITU, para establecer si presentan o no una HPB subyacente.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio por cohorte, retrospectivo y transversal. Formaron parte del estudio varones con edades entre 40 y 60 años con síntomas de ITU en más de una ocasión que asistieron al Dispensario de Salud Juan Pablo II de la ciudad de Oruro, Bolivia, desde enero a diciembre de 2023.

Los criterios de inclusión fueron: hombres con edades comprendidas entre 40 y 60 años con reiterada sintomatología compatible con ITU y que presentaban urocultivo negativo.

Los criterios de exclusión fueron: pacientes con sonda vesical, con cáncer de próstata, los que ya estaban diagnosticados de HPB y los que presentaban una enfermedad urológica que se asociara más frecuentemente con reinfecciones urinarias (incontinencia urinaria, cistocele y/o residuo posmiccional).

La determinación cuantitativa del PSA libre y total en suero humano se realizó mediante un inmunoensayo enzimático tipo sándwich (Grupo Mexlab, Zapopan, Jal., México).

El diagnóstico de HPB fue realizado por los médicos del Servicio de Urología del Dispensario de Salud Juan Pablo II e incluyó la anamnesis, examen físico, tacto rectal, determinación del PSA y ecografía de próstata (ecografía transabdominal o transrectal). Dentro de los estudios complementarios, se realizó una uroflujometría y, en ocasiones, una cistoscopia.

Los expedientes clínicos de los pacientes se utilizaron para describir las características sociodemográficas (edad, nivel educativo, ocupación/profesión), los niveles de PSA, cuáles fueron diagnosticados con HPB y cuáles presentaron enfermedades crónicas no transmisibles, como diabetes mellitus, obesidad, dislipidemia e hipertensión arterial.

**Tabla I.** Niveles de PSA L, de PSA T y de la relación PSA L/PSA T que presentaron los pacientes con y sin HPB y con síntomas de ITU en más de una ocasión.

NIVELES DE PSA	HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA	
	PRESENCIA (n=86)	AUSENCIA (n=48)
PSA libre ng/mL [mediana (Q1-Q3)]	1,9 [1,4-2,3]	1,0 [0,8-1,2]
PSA total ng/mL [mediana (Q1-Q3)]	7,0 [5,6-7,7]	3,3 [2,9-5,4]
[(PSA libre/PSA total) x 100] % [mediana (Q1-Q3)]	29 [26,0-30,0]	24,5 [20,5-29,0]

► PSA L: antígeno prostático específico libre; PSA T: antígeno prostático específico total; HPB: hiperplasia prostática específica; ITU: infección del tracto urinario.

### Cálculo del tamaño muestral

Se analizaron 206 expedientes clínicos y, de acuerdo con el análisis estadístico del tamaño muestral, se incluyeron en el estudio 134 pacientes. Dicho análisis se calculó de la siguiente manera:

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{d^2 * (N-1) + Z^2 * p * q}$$

- n: tamaño de muestra
- N: tamaño de la población = 206 personas
- Z: coeficiente de confianza. Z=1.960 para un nivel de confianza del 95%
- p: probabilidad de éxito: 0,50
- q: probabilidad de fracaso: 0,50
- d: error máximo admisible. Consideramos el 5%=0,05

### Análisis de datos

Los datos recolectados se agruparon, codificaron y sistematizaron en una base de datos en Microsoft Excel. Para variables cuantitativas, se calcularon las medidas de tendencia central (media o mediana) y medidas de dispersión (desviación estándar y rango) correspondientes según la distribución de cada variable.

Para estudiar la asociación entre dos variables categóricas se efectuó la prueba  $\chi^2$  de dependencia "Pearson" y para medir la fuerza de asociación, se utilizó la estimación de la *Odds ratio* (OR) con precisión del 95% para el intervalo de confianza (IC). Para determinar si la proporción de pacientes con síntomas de ITU en más de una ocasión que presentó HPB fue de 0,5 o mayor, se realizó la prueba Z de proporciones a una muestra. Las diferencias se consideraron significativas cuando  $p < 0,05$ . El análisis estadístico se realizó con el paquete IBM/SPSS® versión 22.

### Consideraciones éticas

Las consideraciones éticas de esta investigación se realizaron según los lineamientos de la Asociación Médica Mundial, donde se ha promulgado la Declaración de Helsinki

como una propuesta de principios éticos para la investigación médica en seres humanos. Por tal razón, se contó con el permiso correspondiente de director del Dispensario de Salud Juan Pablo II para poder tener acceso a los expedientes clínicos.

### Resultados

La edad de los varones con síntomas de ITU en más de una ocasión fue (promedio  $\pm$  desviación estándar) 52,57  $\pm$  4,30 años; la edad más frecuente fue 50 años; la máxima, 60 años y la mínima, 43 años. Se encontró que el 25% de las edades correspondió a menores de 50 años y el 75%, a menores de 56 años.

Como se muestra en la Tabla I, de los 134 pacientes que participaron del estudio, 86 (64,2%) fueron diagnosticados con HPB. Sus niveles de PSA L ng/mL [mediana (Q1-Q3)] fueron: 1,9 [1,4 - 2,3], los de PSA T ng/mL [mediana (Q1-Q3)]: 7,0 [5,6 - 7,7] y la relación [(PSA L/PSA T) x 100] % [mediana (Q1-Q3)]: 29 [26,0 - 30,0]. Los 48 (35,8%) pacientes restantes no presentaron HPB. En este grupo, los niveles de PSA L ng/mL [mediana (Q1-Q3)] fueron: 1,0 [0,8 - 1,2], los de PSA T ng/mL [mediana (Q1-Q3)]: 3,3 [2,9 - 5,4] y la relación [(PSA L/PSA T) x 100] % [mediana (Q1-Q3)]: 24,5 [20,5 - 29,0].

De los 86 pacientes con síntomas de ITU en forma reiterada y de HPB, 65 (75,6%) presentaron valores de PSA mayores de 4 ng/mL, en tanto que 21 individuos (24,4%) presentaron valores de PSA menores de 4 ng/mL. Por otro lado, de los 48 pacientes con síntomas de ITU en más de una ocasión, sin HPB, solo 15 individuos (31,2%) presentaron valores de PSA superiores a 4 ng/mL, mientras que la mayoría, 33 pacientes (68,8%), mostraron valores de PSA inferiores a 4 ng/mL. Con base en la evidencia muestral, existe relación estadísticamente significativa entre las variables HPB y niveles de PSA. Los pacientes con síntomas de ITU a repetición y PSA > 4 ng/mL tienen 2,09 veces mayor riesgo de presentar HPB que los pacientes con PSA < 4 ng/mL, como se muestra en la Tabla II.

Cuando se evaluó, entre todos los individuos que formaron parte del estudio (n=134), la proporción de pacientes con síntomas de ITU a repetición que presentó HPB se encontró, con base en la evidencia muestral, que dicha proporción fue mayor de 0,5 ( $p < 0,001$ ).

**Tabla II.** Relación de los niveles de PSA que presentaron los varones con síntomas de ITU en reiteradas ocasiones con y sin HPB.

Niveles de PSA	HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA (n=134)			Odds Ratio (IC 95%)
	SÍ (n=86)	NO (n=48)	p valor	
PSA > 4ng/mL	65 (75,6%)	15 (31,2%)	P < 0,001	2,09 (1,47-2,97)
PSA < 4 ng/mL	21 (24,4%)	33 (68,8%)		

► PSA: antígeno prostático específico; ITU: infección del tracto urinario; HPB: hiperplasia prostática benigna. Con base en la evidencia muestral, existe relación estadísticamente significativa entre las variables HPB y niveles de PSA ( $p < 0,001$ ). Los pacientes con síntomas de ITU a repetición y PSA > 4 ng/mL tienen 2,09 veces mayor riesgo de presentar HPB que los pacientes con PSA < 4 ng/mL.

### Discusión

El propósito del presente estudio fue mejorar los servicios de atención médica de los centros de salud de primer nivel, de modo de evitar mayores gastos a los pacientes y mejorar su calidad de vida. Para ello, se realizó un estudio retrospectivo y transversal en varones de 40 a 60 años que presentaban síntomas de ITU a repetición, para decidir la utilidad clínica de la determinación de PSA en el diagnóstico de HPB en estos pacientes. Se sabe que, ante un incremento del PSA, pueden sospecharse diferentes patologías: HPB, cáncer de próstata e inflamación/infección prostática; esta última se puede diferenciar con un cultivo de orina. Según lo reportado por Molina R y col.<sup>14</sup>, el 25% - 50% de los pacientes con HBP presenta niveles de PSA > 4 ng/mL y, generalmente, son menores de 10 ng/mL. La explicación más frecuente para un PSA sérico elevado es la HPB debido a la muy alta prevalencia de esta afección en hombres mayores de 50 años. En esta enfermedad, se produce más PSA por gramo de tejido prostático que en el tejido prostático normal<sup>15</sup>.

Se encontró una relación significativa entre la HPB y niveles de PSA. Este hallazgo es coincidente con lo reportado por Steers W y col.<sup>16</sup>, quienes establecieron que el diagnóstico de HPB debe abarcar un examen clínico minucioso, un examen genitourinario y la determinación de los niveles plasmáticos del PSA.

Al igual que la población bajo análisis en nuestra investigación, en el estudio denominado "Epidemiología de la HPB asociada a síntomas de ITU"<sup>17</sup>, se llegó a la conclusión de que el número de hombres diagnosticados con HPB/síntomas de ITU, en la última década, ha ido aumentando con el tiempo, y se demostró que el agrandamiento de la próstata, específicamente de la HPB, está asociado con la progresión sintomática de ITU.

En un estudio realizado por Castiñeiras Fernández J y col.<sup>18</sup>, se encontró que, si la relación PSA L/PSA T era > 25%, probablemente se tratara de una HPB. En diversos estudios<sup>19-21</sup>, en los cuales se analizó la capacidad discriminadora entre benignidad y malignidad de la relación PSA L/PSA T

con diferentes puntos de corte para esta relación, concluyeron que el punto de corte óptimo de diferenciación entre HPB y cáncer de próstata era del 18%. En consecuencia, estos autores determinaron que valores mayores del 18% sugieren una HPB. En nuestra investigación, se encontró que, de los 134 pacientes estudiados, 86 (64,2%) presentaron HPB. Los resultados obtenidos en los niveles de PSA T y en la relación PSA L/PSA T son coincidentes con los de Catalana W y col.<sup>20</sup>, quienes propusieron un punto de corte de la relación PSA L/PSA T del 25% para valores de PSA T entre 4 y 10 ng/mL para pacientes con HPB. Se ha postulado que los pacientes con HPB tienen mayor proporción de PSA L en comparación con los pacientes con cáncer de próstata. En consecuencia, la relación PSA L/PSA T, sería de utilidad para evaluar el riesgo de cáncer de próstata. León G y col.<sup>22</sup>, en su estudio con 95 pacientes varones, encontraron que, de los pacientes que presentaron HPB, el 71,1% presentó un índice de PSA L/PSA T mayor de 25%, en concordancia con nuestros hallazgos.

En la HPB, los niveles plasmáticos de PSA son mayores cuanto mayor es el tamaño de la glándula prostática. Los niveles de PSA superiores a 10 ng/mL son siempre patológicos y, en la mitad de los casos, se deben a un cáncer de próstata, el cual se diagnostica por biopsia. En este estudio, se encontró que los pacientes con síntomas de ITU a repetición y PSA T > 4 ng/mL tienen 2,09 veces mayor riesgo de presentar HPB que los pacientes con PSA T < 4 ng/mL.

Según se desprende de los resultados obtenidos, se debe considerar realizar la prueba del PSA en aquellos pacientes varones con síntomas de ITU en repetidas ocasiones. También es importante destacar que nuestro estudio abarcó un grupo etario de mediana edad y, dado que la HPB generalmente se presenta en edades más avanzadas, en muchas ocasiones, esta patología está subdiagnosticada, y se atribuyen los síntomas de ITU a infecciones urinarias o a enfermedades de transmisión sexual, tales como sífilis, gonorrea, etc.

La importancia de este estudio reside en que permite

alertar al médico acerca de que, ante la presencia de un paciente con síntomas de ITU de manera reiterada, debe sospechar la presencia de una HPB y, en caso de confirmarla, podrá instaurar un tratamiento oportuno y eficaz. Esto reducirá las reiteradas consultas a los centros de primer nivel optimizando la atención al paciente y reduciendo las complicaciones de esta patología en un futuro.

En el estudio llamado "El creciente impacto mundial de la hiperplasia prostática benigna"<sup>23</sup>, se llegó a la conclusión de que los síntomas del tracto urinario inferior atribuidos a la HPB generan más impacto sobre la calidad de vida de los varones que cualquier otra enfermedad urológica. A medida que la población envejece y los hombres gozan de una mayor esperanza de vida, se puede prever un aumento en la incidencia y en la demanda de atención médica para la ITU/HPB.

### Conflictos de interés

La investigadora declara no tener conflictos de interés.

### Referencias bibliográficas

- Catalona WJ. History of the discovery and clinical translation of prostate-specific antigen. *Asian J Urol* 2014; 1:12-4. <https://doi.org/10.1016/j.ajur.2014.09.008>
- Sistema de Prueba Antígeno Prostático Específico Total (tPSA) Código de Producto: 2125-300 [Internet]. Com.ec. [Consultado 2023 dic 2]. Disponible en: <https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2024/01/PSA-AccuBind-ELISA-2125-300-Rev.3-Spanish.pdf>
- El análisis inmunoenzimométrico para micropozo. PLDC de C de APEL en el SHM. Antígeno Prostático Específico Libre (APEL) Código de Producto: 2325-30000 [Internet]. Com.ec. [Consultado 2023 dic 2]. Disponible en: <https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2024/01/FPSA-ELISA-AccuBind-2325300.pdf>
- McNally CJ, Ruddock MW, Moore T, McKenna DJ. Biomarkers That Differentiate Benign Prostatic Hyperplasia from Prostate Cancer: A Literature Review. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 5225-41. <https://doi.org/10.2147/cmar.s250829>
- Lokeshwar SD, Harper BT, Webb E, Jordan A, Dykes TA, Neal DE Jr et al. Epidemiology and treatment modalities for the management of benign prostatic hyperplasia. *Transl Androl Urol* 2019; 8: 529-39. <https://doi.org/10.21037/tau.2019.10.01>
- GBD 2019 Benign Prostatic Hyperplasia Collaborators. The global, regional, and national burden of benign prostatic hyperplasia in 204 countries and territories from 2000 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Healthy Longev* 2022; 3: E754-76.
- Lee CL, Kuo HC. Pathophysiology of benign prostate enlargement and lower urinary tract symptoms: Current concepts. *Tzu Chi Med J* 2017; 29: 79-83. [https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj\\_20\\_17](https://doi.org/10.4103/tcmj.tcmj_20_17)
- Devlin C, Simms M, Maitland N. Benign prostatic hyperplasia – what do we know? *BJU Int* 2021; 127: 389–99. <https://doi.org/10.1111/bju.15229>
- Calogero AE, Burgio G, Condorelli RA, Cannarella R, La Vignera S. Epidemiology and risk factors of lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia and erectile dysfunction. *Aging Male* 2019; 22: 12-19. <https://doi.org/10.1080/13685538.2018.1434772>
- Kaikai L, Guorong Y, Yangyang W, Xinze X, Xiaowei H, Aibo P, Dong H, Qing Y, Tao S. The causal effect of metabolic syndrome and its components on benign prostatic hyperplasia: A univariable and multivariable Mendelian randomization study. *Prostate* 2023; 83: 1358–64. <https://doi.org/10.1002/pros.24598>
- Barboza Hernández M. Hiperplasia prostática benigna. *Revista Médica Sinergia* 2017; 2:11–6. <https://doi.org/10.31434/rms.v2i8.91>
- Cardona-Arias J, Ramírez Roldán C, Álvarez Tamayo S, Mena-Paz D, Higueta Gutiérrez L. Prevalencia de uropatógenos en los pacientes atendidos en un hospital del departamento de Antioquia-Colombia. *Archivos de Medicina* 2014; 10: 1-14.
- Klein RD, Hultgren SJ. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Nat Rev Microbiol* 2020; 18: 211-26. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0324-0>
- Molina R, X. Filella X, Ballesta A. El antígeno prostático específico en el diagnóstico precoz del cáncer de próstata. *Medicina Integral* 2000; 36: 199-202.
- Lim KB. Epidemiology of clinical benign prostatic hyperplasia. *Asian J Urol* 2017; 4: 148-51. <https://doi.org/10.1016/j.ajur.2017.06.004>
- Steers WD, Zorn B. Benign prostatic hyperplasia. *Dis Mon* 1995; 41: 437-97. [https://doi.org/10.1016/s0011-5029\(95\)90022-5](https://doi.org/10.1016/s0011-5029(95)90022-5)
- Egan KB. The Epidemiology of Benign Prostatic Hyperplasia Associated with Lower Urinary Tract Symptoms: Prevalence and Incident Rates. *Urol Clin North Am* 2016; 43: 289-97. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2016.04.001>
- Castiñeiras Fernández J, Cozar Olmo J, Fernández-Pro A, Martín J, Brenes Bermúdez F, Naval Pulido E, Molero J, Pérez Morales D. Criterios de derivación en hiperplasia benigna de próstata para atención primaria. *Actas Urol Esp* 2010; 34: 24-34. [https://doi.org/10.1016/S0210-4806\(10\)70007-3](https://doi.org/10.1016/S0210-4806(10)70007-3)
- Prestigiacomo AF, Lijja H, Pettersson K, Wolfert RL, Stamey TA. A comparison of the free fraction of serum prostate specific antigen in men with benign and cancerous prostates: the best-case scenario. *J Urol* 1996; 156 [2 Pt 1]: 350-54. <https://doi.org/10.1097/00005392-199608000-00004>
- Catalona WJ, Smith DS, Wolfert RL, Wang TJ, Rittenhouse HG, Ratliff TL, Nadler RB. Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA* 1995; 274: 1214-20. PMID: 7563511
- Wolff JM, Boeckmann W, Effert PJ, Habib FK, Jakse G. Increased discrimination between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer through measurement of percentage free PSA. *Anticancer Res* 1997; 17[4B]: 2993-94. PMID: 9329583
- León G, León E. Specific prostatic antigen (PSA) and its relationship to benign prostatic hypertrophy (BPH) in elderly adults. *Recinto Píjullo. Canton Urdaneta*. 2015 [Internet]. Edu.ec. [Consultado 2024 Mar 31]. Disponible en: [https://sga.unemi.edu.ec/media/evidenciasiv/2018/02/15/articulo\\_2018215111232.pdf](https://sga.unemi.edu.ec/media/evidenciasiv/2018/02/15/articulo_2018215111232.pdf)
- Bushman W. Etiology, epidemiology, and natural history of benign prostatic hyperplasia. *Urol Clin North Am* 2009; 36: 403-15. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2009.07.003>



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Atribución-No Comercio - Compartir Igual 4.0 Internacional - Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## REVISIÓN

# Estado actual de las pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia del paciente. Rol del bioquímico

## *Current state of the point of care Laboratory testing: role of the biochemist*

D'Isa, Gabriela<sup>1,4\*</sup>; Quattrocchi, Gabriela<sup>2,4</sup>; López, María Alejandra<sup>2,4</sup>; Castro, Marcela<sup>4</sup>; Rodríguez, Fabián<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Química Clínica, Laboratorio Central, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio de Guardia, Departamento de Urgencias, Hospital General de Agudos Dr. Ignacio Pirovano. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Laboratorio Hospital Privado SADIV. San Pedro, Provincia de Buenos Aires.

<sup>4</sup>Capítulo Bioquímico, Sociedad Argentina de Terapia Intensiva.

\*Contacto: Gabriela D'Isa, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Combate de los Pozos 1881. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina; gab.disa@gmail.com

### Resumen

En los últimos años, hubo una rápida expansión del uso de sistemas analíticos para determinar magnitudes biológicas fuera del laboratorio centralizado (POC: *point-of-care*). Estos equipos que proporcionan información útil y rápida para la toma de decisiones clínicas deberían considerarse una extensión del laboratorio que garantizará la calidad en todas las etapas del proceso. Durante la pandemia de COVID-19, fueron fundamentales para la detección y seguimiento de la infección. La correcta instalación y uso de estos sistemas es una preocupación de organismos reguladores, reflejados en la publicación de guías, recomendaciones y normativas. Aunque son frecuentemente percibidos como una amenaza por los servicios del laboratorio clínico y profesionales bioquímicos, la experiencia en diversos países demuestra lo contrario, ya que el laboratorio clínico cuenta con los profesionales capacitados para gestionarlos, quienes pueden asegurar que sean administrados con la calidad necesaria. Es importante ser conscientes de que la implementación de programas *point-of-care* y la mejora de los tiempos de respuesta contribuyen a la mejor atención y cuidado de los pacientes, y que los bioquímicos son los responsables del aseguramiento de la calidad al garantizar la seguridad del paciente.

**Palabras clave:** POC, POCT, *point-of-care*, gestión, aseguramiento de la calidad, estándares, seguridad del paciente, marco regulatorio.

### Abstract

Over the last years, there has been a rapid expansion on the use of analytical systems to determine biological magnitudes outside the centralized laboratory (POC: *point-of-care*). These devices, which provide useful and quick information for clinical decision-making, should be considered an extension of the laboratory as they guarantee quality at all stages of the process. During the COVID-19 pandemic, they were fundamental in the detection and monitoring of the infection. The proper installation and use of these systems is a concern to regulatory bodies, reflected in their publication of guides, recommendations and regulations. Frequently, they are perceived as a threat by clinical laboratory services and professional biochemists. Nevertheless, the experience in diverse countries of the world shows the opposite; the clinical laboratory has professionals trained enough to manage them and ensure their qualified administration. It is important to be aware of the fact that the implementation of *point-of-care* programs and the improvement in response times contribute to better patient care and attention, being the biochemists the ones responsible for quality assurance, guaranteeing the patients' safety.

**Key words:** POC, *point-of-care*, management, quality assurance, standards, patient safety, regulatory framework.

## Introducción

En los últimos años, se ha observado una rápida expansión de sistemas analíticos, desarrollados para determinar magnitudes biológicas fuera de un laboratorio centralizado, cuyo resultado lleva a un posible cambio en el tratamiento del paciente<sup>1,2</sup>. Esto ha acercado algunas pruebas de laboratorio al paciente, denominadas comúnmente como *Point-of-Care Testing* (POC o POCT), pruebas remotas de laboratorio, pruebas de laboratorios portátiles, *Near Patient Testing* (NPT), entre otros términos. Gracias a la incorporación de microtecnología en instrumentos de tamaño reducido, ahora es posible obtener resultados en el lugar y momento donde se necesitan, lo que ofrece una nueva perspectiva sobre la función del laboratorio clínico. Estas tecnologías son aplicables en diferentes ámbitos, tales como hospitales (salas de emergencia, unidades de cuidado intensivo, salas de cirugía), consultorios médicos e incluso hogares de los pacientes. Además, estos sistemas analíticos pueden generar un posible cambio en el tratamiento del paciente, lo que destaca su relevancia en la práctica clínica actual.

Las pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia del paciente son una extensión de la actividad del laboratorio y deben proporcionar información útil para la toma de decisiones clínicas garantizando la calidad para evitar que la seguridad del paciente se vea comprometida<sup>3</sup>.

En particular, el papel de POC también se destacó durante la pandemia de Covid-19 tanto en la detección como en programas de seguimiento. La IFCC llevó a cabo una conferencia en Roma en el año 2021 con el fin de debatir entre expertos de la Federación Europea de Química Clínica y Medicina del Laboratorio (EFLM) y representantes de empresas de productos de diagnóstico *in vitro* (IVD), las distintas dimensiones del POC: garantía de calidad, formación, innovaciones tecnológicas, aplicaciones, mercado y sostenibilidad.

## Materiales y métodos

Se realizó una revisión bibliográfica buscando citas y artículos de relevancia sobre marco regulatorio y normativo de POC. Los distintos organismos que regulan el trabajo en los laboratorios clínicos han demostrado preocupación por la correcta implementación de equipos POC en los establecimientos de salud, lo cual se ve reflejado en la publicación de numerosas guías y recomendaciones específicas por parte de distintas organizaciones y sociedades científicas, como, por ejemplo, la Joint Commission on the Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), College of American Pathologists (CAP), Standards for the Medical Laboratory, Clinical Pathology Accreditation (UK), Clinical Laboratory Improvement Amendments<sup>4</sup> (CLIA 1988). La Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular publicó en el año 2006 la "Guía para la Implantación de Pruebas de Laboratorio en el Lugar de Asistencia al Paciente"<sup>4-6</sup>, y las normas ISO comenzaron a tratar este tema también como, por ejemplo, la ISO 15193:2013<sup>7</sup> *In vitro diagnostic medical devices*

- *Measurement of quantities in samples of biological origin - Requirements for content and presentation of reference measurement procedures*; IRAM-ISO 15189:2014 - Requisitos particulares para la calidad y la competencia<sup>1</sup>; Norma ISO-IRAM 22870:2016<sup>2</sup> Análisis cerca del paciente - Requisitos para la calidad y la competencia. La norma ISO-IRAM 15189:2022 IDT Laboratorios de análisis clínicos - Requisitos particulares para la calidad y la competencia es la nueva versión e incluyó los requisitos de la norma ISO 22870 derogando esta una vez que concluyera el periodo de transición.

Vale aclarar en este punto que CLIA (que es el organismo que dicta las normas federales para el licenciamiento de laboratorios clínicos en EEUU) divide las pruebas de laboratorios con base en su complejidad<sup>5</sup>. Algunos equipos POC están en la categoría menos reglamentada, llamada *waived testing*. Tal categoría originalmente comprendía apenas 8 pruebas, después se extendió a 13 y, actualmente, a más de 50, a medida que las nuevas tecnologías fueron llegando al mercado. Otras agencias estadounidenses están habilitadas a inspeccionar según la norma CLIA e incluyen otros requisitos adicionales para POC.

En Latinoamérica, existen regulaciones y documentos técnicos en varios países, que hacen referencia a la implementación y utilización de equipos POC; muchos de ellos, a partir de la necesidad de utilizar test rápidos para la detección de SARS-COV-2 durante la pandemia iniciada en el año 2020. A continuación, se citan algunos ejemplos:

En Colombia, la resolución 00003100 del año 2019 del Ministerio de Salud y Protección Social hace referencia a la modalidad "extramural" de la prestación de Servicios de Salud y, específicamente en el punto correspondiente al Servicio de Laboratorio Clínico, refiere que es el profesional del laboratorio quien debe realizar la capacitación continua al personal que realiza el manejo de los POC, cumplir con los criterios de calidad (cuando aplique) y contar con los registros correspondientes<sup>8</sup> (puntos 11.3.12.4/16 y 18, respectivamente). La resolución 00001314 del año 2020 adopta los lineamientos para la realización de pruebas rápidas fuera del laboratorio clínico para el diagnóstico temprano de la infección por HIV, sífilis, hepatitis B y hepatitis C y hace referencia a que es el profesional del laboratorio clínico el responsable de la capacitación de los usuarios intervinientes y del control de calidad de estas pruebas<sup>9</sup> y, en el año 2021, el Ministerio de Salud, por medio de otra resolución, establece disposiciones para el uso y manejo de las pruebas de laboratorio utilizadas en los puntos de atención del paciente, dentro de la prestación integral de servicios de salud, así como también, el asegurar su calidad y efectividad<sup>10</sup>.

En Ecuador, la resolución del Ministerio de Salud pública 00005 del año 2020 establece las directrices para el control de la fabricación, importación, almacenamiento, distribución, expendio y uso de pruebas rápidas/PCR, usadas para la detección de SARS-COV-2 durante la emergencia sanitaria, y autoriza la realización de dichas pruebas solo en establecimientos de salud facultados por el Ministerio de Salud<sup>11</sup>.

En Perú, la Directiva Sanitaria N°134 MINSA/2021-INS estandariza los criterios de uso y aplicación de las pruebas rápidas para la detección de antígenos del virus SARS-COV-2 para el diagnóstico de COVID 19 en el país<sup>12</sup>.

En Brasil, la Sociedad Brasileña de Patología Clínica/ Medicina de Laboratorio publicó en el año 2004 las “Directivas para la gestión y garantía de la calidad de Puntos Periféricos de obtención y recogida de especímenes (POCT) o Test Laboratorios Remotos (TLR). En dicho país, ya existe una regulación que obliga a los laboratorios clínicos a supervisar el uso de estos dispositivos dentro de los centros hospitalarios.

La Comisión de Puntos Periféricos de Obtención y Recogida de Especímenes (PPORE) propone un modelo de organización y de responsabilidades. La dirección de la organización a la que el laboratorio clínico está vinculado responde, en última instancia, por la calidad del programa de PPORE que se implemente. Esta comisión recomienda, no obstante, que la dirección general de la institución delegue formalmente al responsable técnico del laboratorio clínico la responsabilidad de la gestión del programa de PPORE, desde la definición de su objetivo hasta su implementación, considerando los aspectos de necesidad médica, implicaciones financieras, viabilidad técnica y capacidad de la organización de cumplir con los requisitos. Propone también un modelo organizacional, describiendo puestos y funciones de los integrantes del grupo de trabajo<sup>13</sup>.

Brasil también participa del IMDRF IVD Working Group (International Medical Device Regulator Forum) a través de la Brazilian Health Regulatory Agency (Anvisa). En este documento, entre otros tópicos, se clasifican los test *in vitro* proponiendo niveles de requerimientos regulatorios incrementales según el riesgo<sup>14</sup>.

En Chile, existe un documento técnico desde el año 2014 del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, Instituto de Salud Pública de Chile, con las recomendaciones para el uso de pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia del paciente (POCT)<sup>15</sup>.

En Argentina, existen varios documentos del Ministerio de Salud referidos a la implementación de Test rápidos, tales como el *Modelo Estándar de Manual de Procedimientos y Calidad para la Implementación de Test Rápidos de VIH*, Ministerio de salud, Presidencia de la Nación Año 2017<sup>16</sup> y el “Consenso sobre el Uso de Pruebas Diagnósticas para SARS-COV-2 del año 2020”<sup>17</sup>.

## Resultados

### 1. Justificación para el uso de los POC

Para poder decidir sobre el uso de los POC en el lugar de asistencia al paciente, es recomendable realizar un estudio de costo/beneficio en el que se deberían considerar al menos los siguientes aspectos:

- Tiempo de respuesta global del laboratorio y tiempo de respuesta requerido
- Necesidad de tomar decisiones clínicas basadas en la rapidez de entrega de resultados

- Necesidad de desplazamiento del paciente/médico u otro profesional de la salud
- Necesidades organizativas de la institución

### Ventajas

- Menor volumen de muestra
  - Uso de muestras no centrifugadas
  - Menor tiempo de transporte de muestras
  - Reducción de los tiempos administrativos asociados con la solicitud y reporte de resultados
  - Rapidez del resultado, lo que reduce el tiempo necesario para la toma de decisiones
  - Intervención terapéutica más rápida
  - Reconocimiento precoz de las situaciones críticas
  - Estratificación rápida de los pacientes en las áreas de atención de urgencia.
- ### Desventajas
- Inadecuada o nula identificación del paciente
  - Deficiente aseguramiento de la calidad de los resultados
  - Posibilidad de inexactitud de las mediciones, lo que origina posibles diferencias en relación con los resultados proporcionados por el laboratorio central
  - Mayor número de personal capacitado con menor nivel de especialización
  - Elevada rotación del personal capacitado de las unidades donde está instalado el POC (con foco clínico y no de laboratorio)
  - Sobreutilización o uso inapropiado
  - Poca adherencia a las normas o reglamentación vigente
  - Capacidad limitada de almacenamiento de los resultados de los POC o falta de registros en la ficha clínica del paciente
  - Conectividad limitada de los POC al sistema informático del laboratorio
  - Costo de la determinación, que puede llegar a ser superior al valor de la determinación del laboratorio central.

### 2. Organización en la implementación de POC: creación de grupo de trabajo, comité, o comisión de POC

Los profesionales del laboratorio (bioquímicos, en nuestro país) deben involucrarse en la implementación de los equipos POC liderando el proceso global de los mismos y ofreciendo el apoyo necesario para su correcto desarrollo, desde la definición de los objetivos hasta su implementación.

En su primera versión, la ISO 22870:2016 (*Point-of-care testing (POCT) — Requirements for quality and competence. Examens de biologie médicale délocalisée (EBMD) — Exigences concernant la qualité et la compétence*), en el punto 4.1.2.1, menciona que debe existir un grupo o comité de profesionales de la salud que tendrá la responsabilidad de definir el alcance de los POCT que se pondrán a disposición de los usuarios. El grupo de trabajo interdisciplinario debe asegurarse de que las responsabilidades y autoridades estén definidas y sean correctamente comunicadas dentro de la organización (punto 4.1.2.3) y deberá asistir en la evaluación (veracidad, precisión, límites de detección,

límites de uso y las interferencias) [punto 4.1.2.4]. También se debe considerar la factibilidad.

La gestión efectiva de programas POC requiere, entonces, de la coordinación de un grupo de trabajo o comité interdisciplinario. Este comité debe ser liderado por la dirección del laboratorio clínico o por un profesional de laboratorio debidamente designado, quien tendrá la responsabilidad de garantizar la implementación y ejecución adecuada de estos programas.

Es recomendable conformar un comité multidisciplinario que convoque a representantes del área administrativa (por ejemplo, de Adquisiciones, mantención y equipos médicos), así como también a profesionales del área médica, incluyendo médicos y enfermeros. La participación de profesionales del laboratorio es esencial, ya que aportarán su experiencia y conocimientos técnicos para la selección y evaluación de los sistemas analíticos POC.

Este grupo de trabajo debe trabajar de manera coordinada y colaborativa para garantizar la evaluación integral y multidisciplinaria de los sistemas POC, con el objetivo de seleccionar el equipo más adecuado para las necesidades específicas de la institución. La conformación adecuada de este comité es crucial para el éxito de los programas POC y para mejorar la atención clínica a los pacientes.

La nueva versión de la Norma ISO IRAM 15189:2022<sup>17</sup> incorpora en su punto 6.7.2 los acuerdos con operadores de POC. Estos acuerdos son efectuados entre el laboratorio (prestador de los servicios) y las unidades que utilizan análisis POC, y su objetivo es el de asegurar que se especifican y comunican las responsabilidades y autoridades respectivas. Aclara que se pueden utilizar comités multidisciplinarios de POC para gestionar tales acuerdos de servicio. De lo mencionado anteriormente, se desprenden las funciones y responsabilidades del comité de POC<sup>18-20</sup>. Estas son:

- Determinar costo/efectividad del POC a implementar
- Seleccionar y evaluar a los proveedores, equipos y reactivos
- Evaluar e implementar las metodologías diagnósticas
- Definir el perfil del operador
- Definir las competencias del operador
- Evaluar e informar los resultados del control de calidad interno (CCI) y control de calidad externo (CCE)
- Implementar un programa de mantenimiento preventivo y correctivo de los equipos
- Llevar registro de cada evento, que incluya daños, mal funcionamiento, modificación o reparación del equipo
- Mantener los registros asociados a los datos del paciente y resultados obtenidos
- Cumplir con los procedimientos de trabajo establecidos
- Establecer los intervalos de medición de las pruebas del equipo POC y sus limitaciones
- Establecer los intervalos de referencia y valores críticos
- Establecer procedimientos a seguir frente a resultados críticos
- Cumplir con las normas de bioseguridad establecidas por la institución
- Establecer canales de comunicación con los usuarios de los

equipos

- Autorizar y establecer requisitos que debe cumplir el personal que puede operar los equipos
- Diseñar un programa de capacitación para los usuarios de estos dispositivos
- Evaluar y entregar formación continua a los usuarios de los POC
- Asegurar la calidad del proceso en su totalidad
- Coordinar la logística de productos
- Establecer la trazabilidad del examen realizado hasta el informe de resultados, entre las distintas unidades y el laboratorio clínico.

Del mismo modo, se recomienda asignar funciones y responsabilidades a los usuarios de los equipos, tales como:

- Comprender los principios y limitaciones de las metodologías
- Realizar y documentar los resultados de las pruebas, según corresponda
- Realizar y registrar los resultados del control de calidad interno y externo según los procedimientos implementados por el responsable del laboratorio
- Mantener actualizados los conocimientos necesarios para el correcto desarrollo de las pruebas
- Velar por el cumplimiento de los procedimientos establecidos para la resolución de problemas y notificación al personal responsable.

### 3. Entrenamiento del personal

Es recomendable que el entrenamiento sea impartido por el proveedor de los equipos en forma conjunta con el personal del laboratorio central entrenado y previamente capacitado en los siguientes tópicos:

- Preparación y toma de muestras (incluye la correcta identificación del paciente)
- Procesamiento y manejo de muestras
- Procesamiento y manejo del material control
- Conocimiento de las limitaciones del método e interferencias
- Emisión de informe y almacenamiento de resultados
- Ejecución del mantenimiento preventivo de los equipos
- Identificación, solución y registro de incidencias según las normas establecidas
- Conocimiento aplicable al manejo de los POC
- Normas de bioseguridad
- Conservación y utilización de reactivos e insumos.

Es necesario que exista documentación acerca de la formación impartida que permita asegurar la competencia de cada operador, así como un listado del personal formado y autorizado para poder operar los equipos de prueba en el lugar de asistencia al paciente.

Como ejemplo de iniciativas encaminadas a garantizar la calidad y seguridad de los pacientes en el contexto de los sistemas analíticos POC, se puede mencionar el caso de la AAC [Academia de la Asociación Estadounidense de Química Clínica]. Dicha institución, ante el creciente auge y expansión de los POC y la consecuente necesidad de contar con profesionales debidamente capacitados para su gestión, consideró necesario desarrollar estrategias para

crear una certificación profesional en POC a través de su división de POC. Como parte de esta iniciativa, se lanzó un programa de certificación de especialista en el punto de atención compuesto por un curso en línea de ocho módulos que abarcan los temas necesarios para asegurar la calidad y seguridad del paciente en todo el proceso. Estos módulos incluyen, entre otros, regulación, manejo de la calidad, políticas y procedimientos, selección y validación de equipamiento, conectividad y tecnología de la información, educación y entrenamiento, así como administración y comunicación<sup>21-22</sup>. Con estas medidas, se busca fomentar una cultura de calidad y seguridad en el ámbito de los sistemas POC y asegurar que los profesionales involucrados en su gestión cuenten con las competencias necesarias para ofrecer una atención adecuada a los pacientes.

#### 4. Garantía de calidad

##### 4.1. Criterios generales

La organización debería asegurar que la implementación de los POC no introduce o aumenta el margen de error diagnóstico. Es fundamental que la utilización de POC esté conforme con las buenas prácticas del laboratorio clínico y las normas de acreditación, cuando corresponda, lo que incluye: responsabilidad técnica, garantía de la calidad, reglamentaciones técnicas, programa de entrenamiento y demostración de competencia del recurso humano, registro de actividades, trazabilidad de los procesos, manejo de desechos, bioseguridad y, si es posible, conectividad al sistema informático del laboratorio y del establecimiento.

La garantía de calidad de los sistemas de POC debe ser abordada de manera específica, y, además del control de variables tradicionales, se requiere un conocimiento exacto de los elementos técnicos y operativos que pueden influir en el proceso analítico. Esto es necesario para evitar la utilización inapropiada o incorrecta de un instrumento, lo que podría conducir a resultados erróneos y, por lo tanto, a decisiones diagnósticas o terapéuticas negativas para el paciente.

Si en una institución se van a utilizar los resultados de POC y los resultados del laboratorio central para el mismo analito, es esencial que los médicos estén conscientes de las posibles diferencias clínicamente significativas entre estos resultados<sup>24</sup>. Esto ha sido demostrado por otros estudios<sup>25,26</sup> resaltando la importancia de las comparaciones regulares entre los POC y los instrumentos de laboratorio central.

Para asegurar que los resultados de los POC sean de alta calidad en entornos hospitalarios o asistenciales, es necesario tener en cuenta la gestión y supervisión por parte del personal del laboratorio. Esto se puede lograr mediante el uso de programas de control de calidad y gestión de POC. A medida que las pruebas de diagnóstico en el punto de atención (POC) se expanden más allá de los entornos hospitalarios y regulados, será fundamental que sigan siendo sometidas a controles de calidad llevados a cabo por profesionales bioquímicos para garantizar una calidad adecuada.

##### 4.2. Documentación de los procedimientos

La comisión, además, puede participar en asegurar que, para cada prueba y/o método, se disponga de procedimientos documentados de al menos los siguientes procesos:

- a) Procesos preanalíticos
  - Preparación del paciente
  - Tipo de muestra y volumen
  - Identificación de la muestra
  - Toma de muestra y preservación de los materiales biológicos
  - Criterios de rechazo de muestras
  - Conservación de reactivos o insumos necesarios para la determinación (ej.: tiras, cartuchos, etc.).
- b) Procesos analíticos
  - Manejo del equipo
  - Instrucciones paso a paso para el análisis de las muestras
  - Procedimientos de conservación y utilización de reactivos o insumos
  - Preparación del equipo o insumos previos al análisis de acuerdo con las especificaciones del fabricante
  - Procedimientos y materiales para el control de calidad interno
  - Documentación de la validación/verificación del sistema analítico
  - Determinación de la correlación entre cada sistema analítico POCT con la metodología del laboratorio central para garantizar la comparación de los resultados
  - Limitaciones del método
  - Intervalos de referencia.
- c) Proceso posanalíticos
  - Informe de resultados y almacenamiento de registros
  - Procedimiento para manejo de resultados críticos
  - Verificación de los resultados provisionales por profesional habilitado
  - Conectividad al sistema informático institucional. Siempre que sea posible y dependiendo del equipo POC, se deben privilegiar los elementos de seguridad de la información, como lectora de código de barras del paciente y operador autorizado, así como la transmisión de los resultados al sistema informático del laboratorio.
- d) Proceso de seguridad/bioseguridad
  - Manejo de residuos
  - Condiciones para el almacenamiento de reactivos
  - Registro de incidencias.

##### 5. Control de calidad (CC)

El comité debe, además, velar por el cumplimiento de un programa de control de calidad que considere los siguientes aspectos:

- a) Control de calidad interno:
  - Todas las técnicas o métodos analíticos realizados en los POC deben estar sometidos a un programa de control de calidad interno (CCI).
  - El CCI debe ser realizado por profesionales del laboratorio clínico asignado para dicha actividad de acuerdo con sus procedimientos.
  - Se debe llevar un registro de los resultados del CCI, así como

su respectivo análisis.

- Deben estar documentadas las acciones que se deben realizar cuando se obtenga un resultado fuera de control según procedimiento establecido.
- El tipo de CCI y la frecuencia serán definidas por el laboratorio de acuerdo con la complejidad del POC y propósito médico del dispositivo, así como de las instrucciones del fabricante y la frecuencia de uso.

#### b) Control de calidad externo:

- Los POC, siempre que sea posible, deberán estar sometidos a un programa de evaluación externa de la calidad (EEC) o un programa formal de comparación interlaboratorio (Peer group). En caso de que no se encuentre disponible un programa, una alternativa es desarrollar algún mecanismo que proporcione evidencia objetiva de que los resultados son aceptables. Esta comparación se debe realizar a intervalos definidos y con criterios de aceptación establecidos.
- Es posible, también, establecer criterios de aceptabilidad de nuevos lotes de reactivos o cartuchos o tiras reactivas para asegurar que los intervalos de referencia y los intervalos del CC cumplan con lo establecido.
- Los resultados del CC deben ser almacenados debidamente para poder demostrar el correcto desarrollo del proceso, con evidencia de la revisión periódica de los resultados del CC por parte del personal del laboratorio responsable de los POC.

### 6. Verificación de la calibración

El comité debe definir los criterios para la verificación de la calibración de los POC. Entre los criterios para su realización se pueden considerar:

- Cambio en el lote del reactivo, a no ser que el usuario pueda demostrar que el uso de diferentes lotes no afecta la exactitud de los resultados del paciente y el rango usado para informar
- Cuando los datos del Control de Calidad lo indiquen
- Después de un servicio de mantenimiento correctivo o importante
- De acuerdo con lo recomendado por el fabricante.

### 7. Mantenimiento de equipos/ instrumentos

El comité deberá establecer un programa de mantenimiento preventivo de todos los instrumentos POC en uso de acuerdo con las especificaciones del fabricante. En los procedimientos de trabajo debe quedar establecido que no se permite el análisis de muestras hasta que se haya realizado el mantenimiento de los equipos. Se debe asignar al menos una persona en cada unidad o servicio, que se responsabilice del mantenimiento respecto del usuario y su registro, una vez entrenada para ello y demostrada su capacitación.

Los mantenimientos correctivos deben quedar registrados, y es el laboratorio el responsable de centralizar esta información para hacer seguimiento del funcionamiento.

Las normas menos complejas, como son las de la CLIA y las de la Commission on Office Laboratory Accreditation (COLA), para las pruebas tipo *waived*, requieren solo que el

proveedor de las pruebas (sea o no un laboratorio clínico) se registre junto a la Health Care Financing Administration (actual Centers for Medicare & Medicaid Services) y compruebe conformidad con las instrucciones del fabricante. La Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations (JCAHO) requiere que las pruebas *waived* pasen por una evaluación de la calidad realizada a diario y que haya acción correctiva documentada en caso de falla, que haya trazabilidad de un resultado relativo a un equipo y evaluación de la calidad específicos, y que haya capacitación formal de todos los operadores. El College of American Pathologists (CAP en EE. UU. y SPBC/ML en Brasil) sigue los lineamientos de CLIA. CAP trata la mayoría de los POC, clasificados como *waived* por la CLIA, como de alta complejidad. Para estos exámenes, CAP requiere control de calidad en dos niveles por corrida analítica, verificación de los parámetros de desempeño analítico (exactitud, precisión, rango de trabajo, sensibilidad, especificidad, linealidad, verificación de calibración y del rango de referencia), además de la documentación de la competencia personal y de los resultados de examen y de la evaluación de la calidad diarios. También, CAP exige pruebas de aptitud para todas las muestras de análisis. Algunos POC se clasifican como de moderada complejidad. En general, los requisitos para esos exámenes son: la existencia de manuales de procedimientos en los locales de uso, calibración o verificación de la calibración cada seis meses, procesar por lo menos dos niveles diarios de evaluación de calidad, y tener registro documentado de la capacitación del personal.

A medida que evoluciona la tecnología, podrían ser necesarios nuevos procedimientos para la garantía de la calidad, considerando la continua actualización de los requisitos de acreditación.

### 8. Bioseguridad

Todos los procedimientos de manejo de muestras, reactivos e insumos para POC, en cuanto a seguridad/bioseguridad, deben realizarse de acuerdo con la normativa vigente y bajo la reglamentación desarrollada por cada institución según su nivel de complejidad.

Durante la obtención de muestras y carga de las mismas en las tiras reactivas, cartuchos o dispositivos se deben aplicar las precauciones estándar y capacitar previamente al personal que va a operar el equipo en el uso adecuado de los elementos de protección personal (EPP). Las tiras reactivas, cartuchos o elementos que contienen muestras biológicas deben ser tratados como material contaminado.

### 9. Informe de resultados

Es crucial que los resultados de las pruebas de diagnóstico en el punto de atención (POC), junto con cualquier otra información clínica relacionada con la atención del paciente, sean tratados de forma confidencial y estén sujetos a medidas de seguridad adecuadas para evitar la pérdida de datos.

Al usuario del equipo POC le corresponde validar la información entregada por el equipo verificando los resultados

obtenidos del examen realizado y los datos del paciente, así como también le corresponde llevar el respectivo registro de los resultados en un sistema diseñado por la institución para ello.

Algunos equipos POC disponen de sistemas de conexión inalámbrica y lector de código de barras por lo que es factible la identificación del paciente (por ejemplo, a partir de la lectura de la pulsera identificatoria), así como la transmisión de resultados, una vez efectuado el examen, directamente al sistema informático institucional. Estos sistemas sin duda pueden asegurar de mejor manera la trazabilidad y la seguridad en la información.

En caso de que la institución disponga de transmisión electrónica, se debe garantizar el acceso restringido y personalizado mediante claves de usuarios, contraseñas y posible encriptación de los datos.

Los informes de resultados de los exámenes obtenidos, realizados en equipos POC tendrán que estar disponibles y recuperables como cualquier informe de laboratorio, cumpliendo con los plazos legales y reglamentarios de conservación de resultados. Las normas ISO recomiendan, además, que se registre la identidad de la persona que realiza la prueba y que el registro permita distinguir entre los resultados POC y los del laboratorio central o sus satélites.

## Discusión

La evaluación y la gestión competente de los programas de pruebas en el punto de atención (POC) representan un desafío que se traduce como una oportunidad de desarrollo de un nuevo campo fuera de las puertas del laboratorio para los bioquímicos y otros profesionales del laboratorio clínico. Hasta el momento, los POC han sido vistos como una amenaza, una forma de prescindir o de reemplazar los servicios del laboratorio y la actividad bioquímica. La experiencia que se ha acumulado en numerosos países muestra todo lo contrario: es el laboratorio clínico el que debería incluso poder ofrecer el POC, gestionarlo y controlarlo. La evidencia demuestra claramente que los programas POC tienen mejor desempeño cuando el laboratorio participa de su gestión. Los procesos y flujos involucrados son muy semejantes a los del laboratorio centralizado, que ya tiene los conocimientos necesarios para que los programas POC se desarrollen con calidad.

A medida que el POC se traslada fuera de las instituciones de salud (por ejemplo, a través de la telemedicina, farmacias y hogares), es esencial que se pueda gestionar la calidad de estas pruebas en estos nuevos ámbitos<sup>22</sup>.

La mejor herramienta de la calidad es la capacitación, sin embargo, en una encuesta nacional de instituciones de salud pública en Estados Unidos, publicada por Kost et al.<sup>28</sup>, referida a la existencia de currícula en POC en salud pública, se evidenció la ausencia de formación, de capacitación práctica y de cursos acreditados en esta materia en EE.UU. Además, los requisitos de certificación de salud pública y los libros de texto generalmente no incluyen capacitación referida al POC<sup>27,28</sup>.

Es necesaria la toma de conciencia acerca de que la mejora en el diagnóstico de emergencia mejora la salud pública, que el POC existe, que es incumbencia del laboratorio, que debe existir un nuevo rol, el de coordinador de POC (una nueva subespecialidad en este campo), que tenga la responsabilidad de aplicar estrategias para resolver problemas emergentes<sup>28,20</sup>. Para la Joint Commission International [Accreditation Standards for Laboratories], una persona calificada es responsable de la vigilancia y supervisión de las pruebas en el punto de atención<sup>30</sup>. En Argentina, es, sin dudas, el bioquímico "la persona calificada por sus competencias e incumbencias para ejecutar este rol".

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

## Referencias bibliográficas

1. Norma IRAM-ISO 15189:2014. Laboratorios de análisis clínicos - Requisitos particulares para la calidad y la competencia. [Consultado el 20 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-4:v1:es>
2. Norma IRAM-ISO 22870:2016. Análisis cerca del paciente - Requisitos para la calidad y la competencia. Consultado el 20 de febrero de 2023. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-4:v1:es>
3. Educación continuada en el laboratorio clínico - Comité de educación- D. Balsells, B. Battikhi, R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, A. Merino, A. Moreno, A. Peña, N. Rico, M. Rodríguez (Presidente), MC. Villà. ISBN 978-84-697-4017-0. Abril 2018. <https://www.seqg.es/download/tema/24/5613/495331182/1125764/cms/tema-7-evolucion-de-las-pruebas-de-laboratorio-en-el-lugar-de-asistencia-al-paciente-poct.pdf>
4. Trevor Allison, Ellis Jacobs, Adil I. Khan, Evan Ntrivalas, Anne Skurup, Rosy Tirimacco. A primer of Point of Care Blood Gas Testing for laboratorians. Point of Care Testing [C-POCT] Committee of the IFCC. Disponible en: <https://www.myadlm.org/-/media/Files/Science-and-Practice/Practice-Guidelines/Point-of-Care-Testing/POCT-Entire-LMPG.pdf?la=en&hash=FAB661858E6C81B5467B641C99E2EE6BA29D50F6>
5. CLIA. [Centers for Disease Control and Prevention]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5413a1.htm>
6. Oliver-Sáez P, Alonso-Díaz R, Lirón-Hernández J, Monzó-Inglés V, Navarro-Segarra X, Noval-Padillo JA, et al. Guía sobre las pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia al paciente (POCT). Rev Lab Clín. 2016;9(2):60-80, <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2017.11.003>
7. Norma IRAM-ISO 15193:2013. In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Requirements for content and presentation of reference measurement procedures. [Consultado el 10 de Marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/es/#iso:std:iso:15193:ed-2:v1:en>
8. Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. Resolución 00003100/2019. [Consultado el 20 de Marzo de 2023]. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%203100%20de%202019.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%203100%20de%202019.pdf)
9. Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. Resolución 00001314/2020. [Consultado el 20 de Marzo de 2023]. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%201314%20de%202020.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%201314%20de%202020.pdf)
10. Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia. Resolución No. 200 de 2021. [Consultado el día 20 de Marzo de 2023]. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/Normatividad\\_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%20200%20de%202021.pdf](https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%20200%20de%202021.pdf)
11. Ministerio de Salud Pública de Ecuador. Resolución 00005/2020. [Consultado el día 1 de Marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/direccion-nacional-de-articulacion-de-la-red-publica-y-complementaria/>

- [https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/AC\\_00005\\_A\\_2020%20DABR%2018.pdf](https://aplicaciones.msp.gob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/AC_00005_A_2020%20DABR%2018.pdf)
12. Ministerio de Salud (MINSA), Instituto Nacional de Salud (INS). Directiva Sanitaria N°134 MINSA/2021-INS. [Consultado el día 20 de Marzo de 2023]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1984004/Directiva%20Sanitaria%20N%C2%BA%20134-MINSA/2021/INS.pdf>
  13. Sociedad Brasileña de Patología Clínica/Medicina de Laboratorio. Posición oficial 2004 - Directivas para la gestión y garantía de la calidad de Puntos Periféricos de obtención y recogida de especímenes (POCT) / Pruebas Remotas de Laboratorio (PRL) / Testes Laboratorios Remotos (TLR) / Point-of-Care Testing (POCT). Dirección Ejecutiva - GESTIÓN 2004/2005.
  14. Grupo de Autoría de Clasificación de Dispositivos Médicos de Diagnóstico In Vitro (IVD) del Grupo de Trabajo IMDRF IVD. Principles of In Vitro Diagnostic (IVD) Medical Devices - Classification. Fecha: 21 de enero de 2021. Disponible en: <https://www.imdrf.org/sites/default/files/docs/imdrf/final/technical/imdrf-tech-wng64.pdf>
  15. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile. Recomendaciones para el uso de pruebas de laboratorio en el lugar de asistencia del paciente (POCT). Celis Morales TM. Jefe Sección Coordinación de Redes de Laboratorio. Sub departamento Coordinación Externa. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile. [Consultado el día 03 de Marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.ispch.cl/sites/default/files/POCT%20-%2022082014A.pdf>
  16. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación. Modelo estándar de manual de procedimientos y calidad para la implementación de test rápidos de VIH. Año 2017. [Consultado el día 05 de Marzo de 2023]. Disponible en: [https://www.msal.gob.ar/images/stories/ryc/graficos/0000001066nt-2017-04-19\\_manual-procedimiento-test-rapidos.pdf](https://www.msal.gob.ar/images/stories/ryc/graficos/0000001066nt-2017-04-19_manual-procedimiento-test-rapidos.pdf)
  17. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación. Consenso sobre el uso de pruebas diagnósticas para SARS-COV-2. Año 2017. [Consultado el día 10 de Marzo de 2023]. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/consenso-sobre-el-uso-de-pruebas-diagnosticas-para-sars-cov-2>.
  18. Norma IRAM-ISO 15189, Cuarta edición, Requisitos para la calidad y la competencia (ISO 15189:2022, IDT) - Laboratorios médicos Requisitos para la calidad y competencia, Anexo A (normativo) Requisitos adicionales para los análisis realizados cerca del paciente (POCT). 2023-03-20. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-4:v1:es:fn:3>.
  19. Rodríguez EF, Schocron R. Recomendaciones para la implementación de equipos point of care. Rev Argent Ter Intensiva. 2019;36(1). Disponible en: <https://revista.sati.org.ar/index.php/MI/article/view/594/pdf>
  20. Howerton D, Anderson N, Bosse D, Granade S, Westbrook G. Good laboratory practices for waived testing sites: survey findings from testing sites holding a certificate of waiver under the clinical laboratory improvement amendments of 1988 and recommendations for promoting quality testing. MMWR Recomm Rep. 2005;54(RR-13):1-25; quiz CE1-4. PMID: 16280973.
  21. Nichols JH, Alter D, Chen Y, Isbell TS, Jacobs E, Moore N, Shajani-Yi Z. AACC Guidance Document on Management of Point-of-Care Testing. J Appl Lab Med. 2020;5(4):762-787, <https://doi.org/10.1093/jalm/jfaa059>
  22. Isbell TS, Colwell E, Frank EL, Karon BS, Luzzi V, Wyer LA. Professional certification in point-of-care testing. EJIFCC. 2021;32(3):303-310. PMID: 34819820; PMCID: PMC8592634.
  23. Campbell S. Point of Care Testing (A little) Past and (more) Future. VA Connecticut Healthcare Yale School of Medicine. Disponible en: [https://www.cdc.gov/cliacc/docs/april-2022/7\\_The-Laboratory-Perspective.pdf](https://www.cdc.gov/cliacc/docs/april-2022/7_The-Laboratory-Perspective.pdf)
  24. Yip PM, Venner AA, Shea J, Fuezery A, Huang Y, Massicotte L, Tetreault N, Tomalty C, Shaw JLV. Point-of-care testing: A position statement from the Canadian Society of Clinical Chemists. Clin Biochem. 2018;53:156-159, <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.01.015>.
  25. Khan AI, Vasquez Y, Gray J, Wians FH Jr, Kroll MH. The variability of results between point-of-care testing glucose meters and the central laboratory analyzer. Arch Pathol Lab Med. 2006;130(10):1527-32, <https://doi.org/10.5858/2006-130-1527-TVORBP>
  26. Roth-Kleiner M, Stadelmann Diaw C, Urfer J, Ruffieux C, Werner. Evaluation of different POCT devices for glucose measurement in a clinical neonatal setting. Eur J Pediatr. 2010;169(11):1387-95, <https://doi.org/10.1007/s00431-010-1243-2>
  27. Kost GJ, Zadrán A, Zadrán L, Ventura I. Point-Of-Care Testing Curriculum and Accreditation for Public Health-Enabling Preparedness, Response, and Higher Standards of Care at Points of Need. Front Public Health. 2019;6:385, <https://doi.org/10.3389/fpubh.2018.00385>
  28. Kost GJ. Public Health Education Should Include Point-of-Care Testing: Lessons Learned from the COVID-19 Pandemic. EJIFCC. 2021;32(3):311-327. PMID: 34819821; PMCID: PMC8592632.
  29. Nguyen T, Kost G. The Status of Point-of-Care Testing and Coordinators in Vietnam: Needs Assessment, Technologies, Education, Exchange, and Future Mission. Point of Care. 2020;19:19-24, <https://doi.org/10.1097/POC.0000000000000196>
  30. Joint Commission International. Accreditation Standards for Laboratories. 4th Edition. Effective 1 January 2022. Página 28, Point-of-Care Services QCP.6.



Esta obra está bajo la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International. Permite compartir (copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato) y adaptar (remezclar, transformar y crear, a partir del material, otra obra) siempre que se cite la autoría y la fuente original de su publicación (revista, editorial y URL de la obra), no sean utilizados para fines comerciales y que se respeten los mismos términos de la licencia.

## 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.