

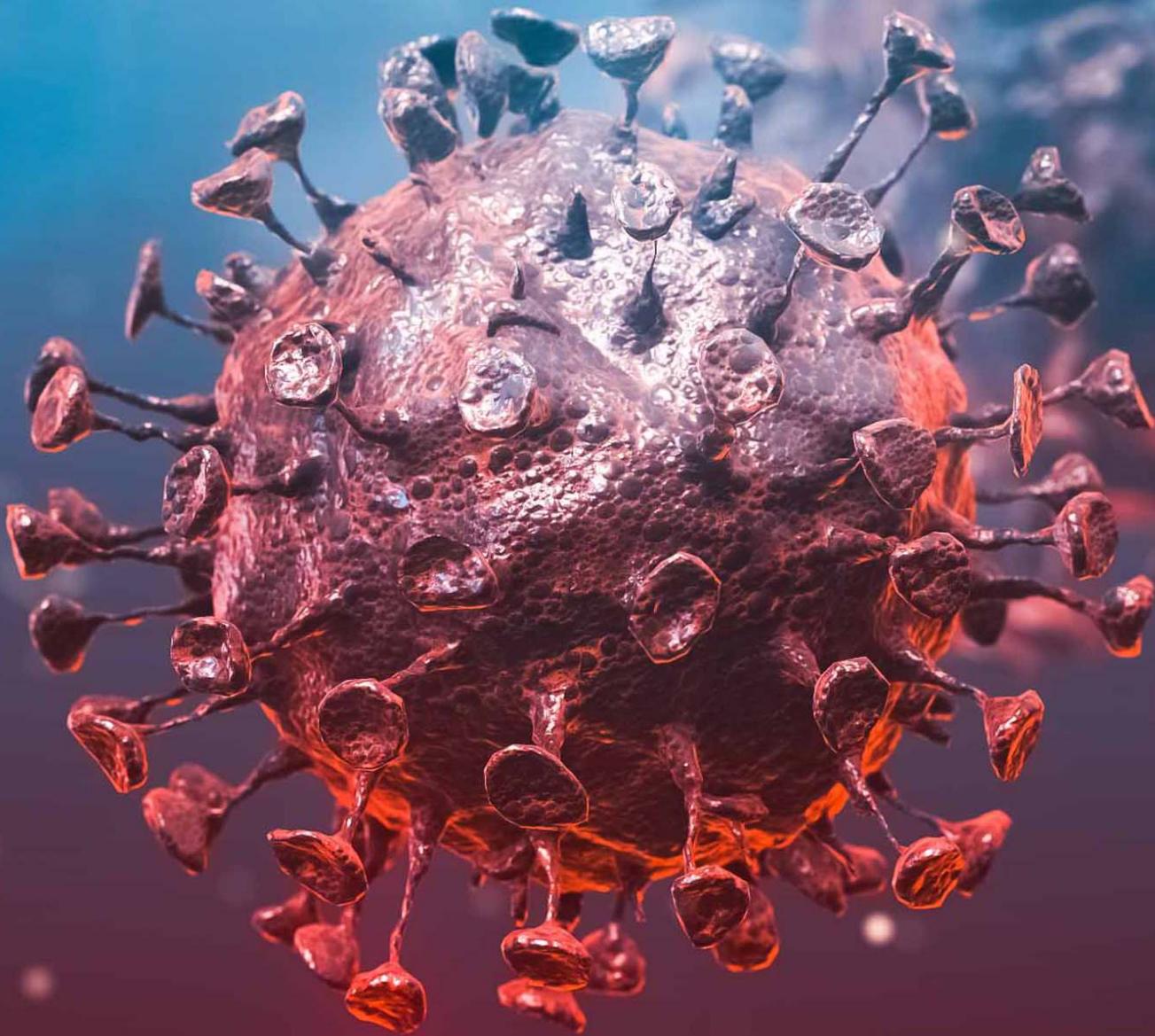
Revista

bioanálisis

www.revistabioanálisis.com

Año 16 - N° 105

Septiembre 2020



Pruebas moleculares diagnósticas de SARS-COV-2: fundamentos.

Autoanticuerpos anti ZnT8
en pacientes con Diabetes Mellitus

Estandarización y validación de pruebas de elisa tipo indirecto para la determinación de los niveles de anticuerpos IgG e IgE anti- leishmania, como método complementario para el diagnóstico y seguimiento de la respuesta al tratamiento.

Aspectos bioquímicos y factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino



Soluciones en Coagulación



COMPROMISO CON
LA INNOVACIÓN.



SOLUCIONES
DE VALOR.



EXPERIENCIA
COMPROBADA.

Pruebas Point of Care

**CoaguChek® XS y
CoaguCheck Pro II**
PT/INR - APTT



Pruebas Moleculares

cobas z 480
Factor V Leiden / Factor II



Laboratorio Centralizado

cobas t 411
cobas t 511
cobas t 711



PROPUESTA DE
VALOR 360°

*Nuestra oferta global en coagulación brinda soluciones
sinérgicas que cubren todas las áreas de atención médica.*

Productos aprobados por A.N.M.A.T
COBAS y COAGUCHEK son marcas registradas de Roche.
Uso profesional exclusivo

Productos Roche S.A.Q. e I.
Rawson 3150, Ricardo Rojas,
Bs. As. Argentina

argentina.diagnostics@roche.com
roche.com.ar
LinkedIn Roche Argentina



 **NextLAB**[®] **10**
E LEVA SU POTENCIAL

Celebrando 10 años de liderazgo

Soluciones de Software
para la gestión integral
del laboratorio.

LITE

PRO

ENT

Staff Revista Bioanálisis <<

Teléfono: (54 261) 681-6777 - Horario de Atención: de 9 a 17 hs.
 Dirección General: Lic. Daniela Lamy | dlamy@revistabioanálisis.com
 Directora de Marketing: Elda Bordin | mkt@revistabioanálisis.com
 Directora de Contenidos: Dra. Evelina Rosales Guardia | info@revistabioanálisis.com

>>> Editorial

En nuestra edición N°105 de Revista Bioanálisis les presentamos una revisión de las técnicas de PCR para el diagnóstico de SARS-COV-2: sus usos y fundamentos de los kits disponibles y aprobados hasta el momento por la ANMAT. Es necesario estar actualizados sobre todo en este tema que nos tiene como protagonistas. El cáncer representa un gran reto para la sociedad contemporánea; el de cuello uterino constituye la segunda causa de muerte en la mujer a nivel mundial. Aspectos bioquímicos y factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino son abordados en otro interesante trabajo. La estandarización y validación de pruebas de elisa tipo indirecto para la determinación de los niveles de anticuerpos IgG e IgE anti-leishmania, como método complementario para el diagnóstico y seguimiento de la respuesta al tratamiento es otro de los trabajos presentados. Laboratorios Manlab nos trae una revisión sobre Autoanticuerpos anti ZnT8 en pacientes con Diabetes Mellitus. Y como cada mes toda la formación de postgrado, bioagenda y soluciones para nuestra labor diaria.

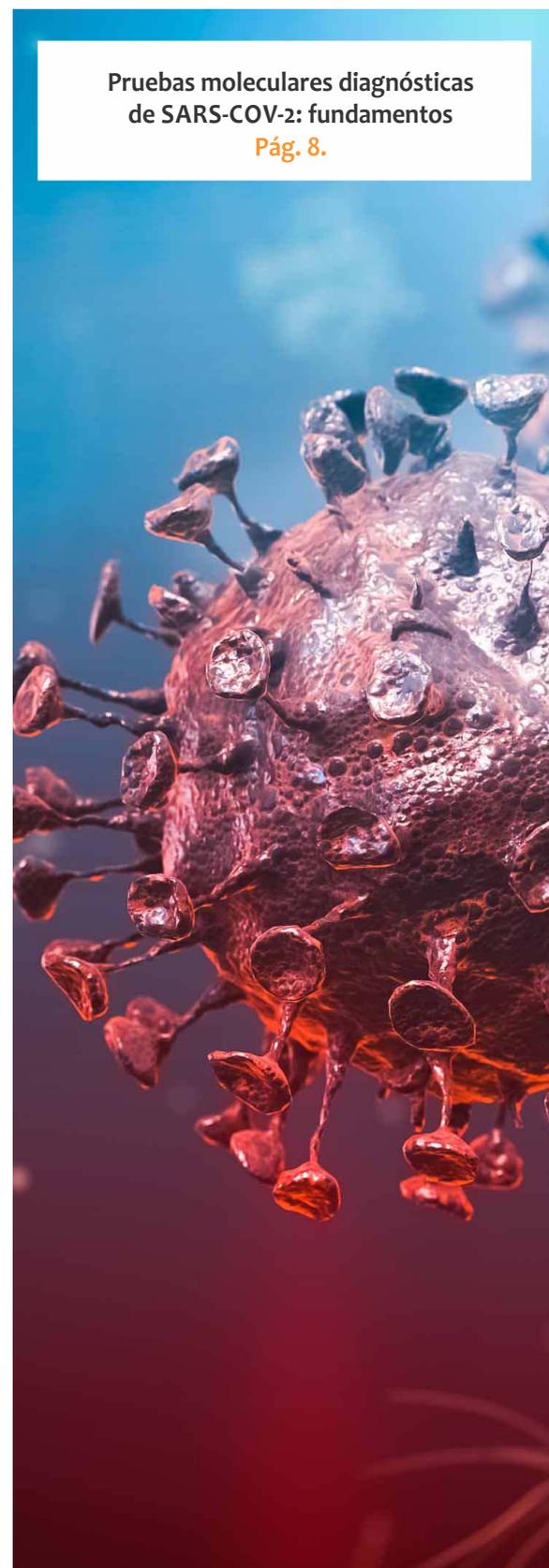
“Frente a las enfermedades que genera la miseria, frente a la tristeza, la angustia y el infortunio social de los pueblos, los microbios, como causas de enfermedad, son unas pobres causas”

Dr. Ramón Carrillo

Bioq. Evelina Rosales Guardia
 Directora de Contenidos
 info@revistabioanálisis.com

Pruebas moleculares diagnósticas de SARS-COV-2: fundamentos

Pág. 8.



>> Pág .60 COVID-19: NUEVO DESARROLLO ARGENTINO
Biocientífica SA desarrolla un nuevo kit de RT-PCR
para SARS-CoV-2 de alta sensibilidad

>> Pág .62 Profesionalizar el manejo del paciente
anticoagulado

Formación de Posgrado. Pág 64<<
BioAgenda // Empresas. Pág 66 <<



Autoanticuerpos anti ZnT8 en pacientes
con Diabetes Mellitus

Pág. 24.



Aspectos bioquímicos y factores
de riesgo asociados con el
cáncer cervicouterino

Pág 32.



Estandarización y validación de pruebas
de *elisa* tipo indirecto para la determinación
de los niveles de anticuerpos IgG e IgE
anti- leishmania, como método
complementario para el diagnóstico y
seguimiento de la respuesta al tratamiento

Pág. 46.

cobas® 6800

ÚNICO EQUIPO EN EL PAÍS



CE-IVD
FDA-EUA (Emergency Use Authorization)
PRODUCTO AUTORIZADO POR ANMAT
para COVID-19



SISTEMA INTEGRADO DE
EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN POR
RT-PCR EN TIEMPO REAL,
TOTALMENTE AUTOMATIZADO.



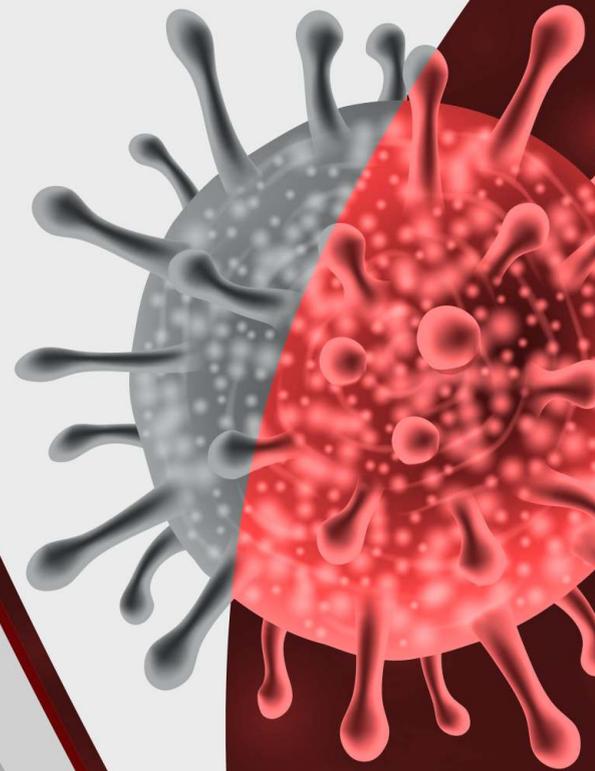
AMPLIFICACIÓN DEL GEN E (PAN-
SARBEVIRUS), REGIÓN ORF 1/A
(SARS-COV-2) Y CONTROL INTERNO.



OPTIMIZACIÓN DEL TIEMPO DE
PROCESAMIENTO, CON
RESULTADOS EN 24/48HS.



TRAZABILIDAD GARANTIZADA DE LAS
MUESTRAS MEDIANTE LA IDENTIFICA-
CIÓN POR RADIOFRECUENCIA (RFID) Y
CÓDIGOS DE BARRAS.



LA TECNOLOGÍA MÁS AVANZADA PARA DETECCIÓN DE SARS-COV-2 ESTÁ EN MANLAB

**NUESTRA CAPACIDAD DE PROCESAMIENTO
ES DE 1500 MUESTRAS POR DÍA.**

**Guardia COVID-19 de
lunes a domingos 24hs.**



MANLAB[®]

Diagnóstico Bioquímico y Genómico

(011) 6842 1200 | derivaciones@manlab.com.ar | www.manlab.com.ar

 /LaboratorioMANLAB |  @laboratoriomanlab



Pruebas moleculares diagnósticas de SARS-COV-2: fundamentos

>>> Desde el comienzo de la pandemia hasta la actualidad existen 134 kits aprobados por el ANMAT para el diagnóstico molecular para SARS-CoV-2, de los cuales el 48% son pruebas moleculares con detección de genes codificados por el RNA viral y los restantes son test serológicos. En la siguiente revisión se analizan las técnicas de biología molecular utilizadas y sus fundamentos.

>>> AUTORES

Ayesa, María Florencia (1,3) ; Gómez Nidia Noemí (2) y Varas Silvia Mabel (3)

1-Alumna 5to año carrera Licenciatura en Bioquímica, FQByF. Universidad Nacional de San Luis (UNSL).

E-mail: ayesa.florencia@gmail.com

2-. Laboratorio de Morfofisiología, Facultad de Química Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de San Luis (UNSL). IMIBIO-SL (CONICET).

E-mail: gomez.nidia@gmail.com

3- Área de Química Biológica. Curso: Técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico bioquímico. Facultad de Química Bioquímica y Farmacia. Uni-

versidad Nacional de San Luis (UNSL).
E-mail: silvia.varas@gmail.com

>>> RESUMEN

Introducción: en cuestión de semanas estuvieron disponibles pruebas de diagnóstico molecular para SARS-CoV-2 aplicando técnicas usadas en investigación básica.

Metodología: La revisión de la literatura se realizó a través de búsquedas en la Base de Datos Cochrane y PubMed-MEDLINE, **LitCovid**, **CDC** y páginas oficiales del ANMAT hasta el 8 de agosto de 2020.

Resultados: hay 134 kits aprobados por el ANMAT de los cuales el 48% son pruebas moleculares con detección de genes codificados por el RNA viral y

Tecnología escalable que acompaña su crecimiento

Módulo WEB, parte de la familia de NextLAB, que permite gestionar amigablemente a Pacientes, Doctores y Laboratorios derivantes



- Consulta de Resultados on line
- Ingresar órdenes en entorno Web
- Solicitar análisis a pie de cama



Detalle del módulo WEB.
Concentra la información del laboratorio en un solo sitio de internet.

p-WEB Brinda la posibilidad para que el paciente, desde cualquier lugar, acceda a sus resultados/ descargar/ imprimir, ingresando un usuario y clave de acceso.

i-WEB Módulo que permite la solicitud a pie de cama de nuevos análisis.

d-WEB Permite administrar la carga, el seguimiento y el resultado, siendo la mejor herramienta para los laboratorios derivantes.



SOFTWARE INTELIGENTE

NextLAB BY Genetics S.A

Av. del Libertador 8630 6to Piso"1"

C1429EIB Núñez Buenos Aires

T. (+5411)52 63 02 75 Rot

F. (+5411)52 63 02 75 Ext 100

info@nextlab.com.ar

los restantes son test serológicos. Se analizaron los fundamentos de las técnicas moleculares que están siendo usadas.

Conclusiones: Existen una serie de técnicas de amplificación isotérmica que son usadas en los test de diagnóstico asociados a ensayos de CRISP-Cas y/o a ensayos de difusión lateral.

Palabras claves: Amplificación Isotérmica, RT-LAMP, ensayo de difusión lateral, CRISP-Cas

>>> INTRODUCCIÓN

La pandemia de COVID-19, causada por el virus SARS-CoV-2 produjo a nivel mundial 17.918.582 casos confirmados de COVID-19 (9.630.598 pertenecen a las Américas), con 686.703 muertes, datos aportados por la OMS al 3 de agosto de 2020 (1).

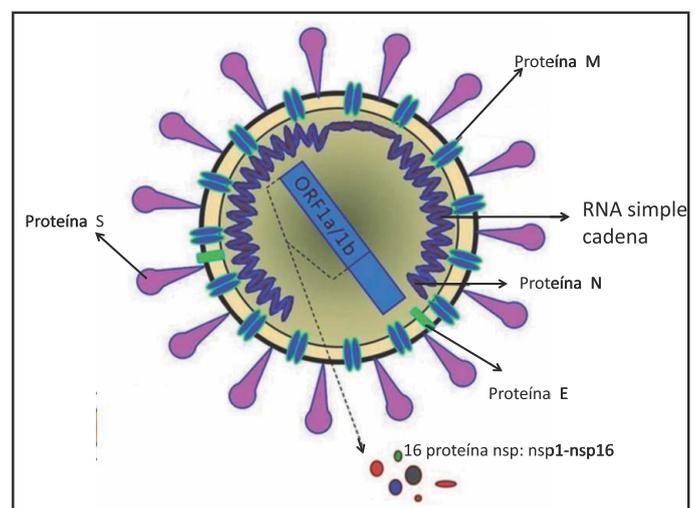
En nuestro país el total de casos confirmados es de 201.919 (49,2% mujeres y 50,8% hombres) con 3813 muertes (2). En Argentina, desde el 17-3-2020, se han unido institutos científicos, universidades y empresas para desarrollar y producir kits diagnósticos de fabricación nacional, que sumado a docenas de kits extranjeros constituyen una respuesta rápida para el diagnóstico del COVID-19. El acceso a las pruebas de diagnóstico permite: detección de pacientes con enfermedad activa, detección de portadores asintomáticos, control de la propagación y contagio a personas de riesgo, seguimiento y encapsulamiento de brotes. Los enfoques de las pruebas actuales se dividen en dos categorías: detección del ácido nucleico viral o pruebas serológicas. Las pruebas de ácido nucleico sondan directamente el ARN de los virus extraídos de la garganta o del conducto nasal de un paciente, mientras que las pruebas serológicas detectan anticuerpos presentes en el suero del paciente. Durante los primeros días de infección, los títulos virales de los pacientes son altos y un solo hisopo nasofaríngeo puede albergar cerca de 1 millón de partículas virales de SARS-CoV-2. Sin embargo, la producción de anticuerpos IgG e IgM del paciente, denominada seroconversión, generalmente ocurren 5 a 10 días después del inicio de los síntomas. Por lo tanto, las pruebas de ácido nucleico ofrecen la detección más temprana y más

sensible de la presencia de SARS-CoV-2. La prueba de RT-PCR iniciada por los CDC (Centers for Disease Control and Prevention) se ha considerado el "estándar de oro" para el diagnóstico clínico, pero requiere reactivos, equipos y personal especializados (3), con lo cual han surgido otras técnicas para su diagnóstico (4). Por lo antes expuesto el objetivo de este trabajo es analizar los fundamentos de las pruebas de detección de ácidos nucleicos para esta enfermedad volcados en los kits utilizados en los laboratorios de análisis clínicos.

Estructura del virus

El SARS-CoV-2 es un coronavirus de ARN monocatenario (ssRNA) positivo envuelto. Este virus tiene una longitud de aproximadamente 30.000 nucleótidos. El genoma codifica 27 proteínas, incluida una ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp). Dos tercios de ARN viral, ubicados principalmente en el primer marco de lectura abierto (ORF 1 a/b) codifican para 16 proteínas no estructuradas (NSP) (Fig. N°1). La parte restante del genoma del virus codifica para cuatro proteínas estructurales esenciales: la glucoproteína espiga (S, de spike), la proteína pequeña de la envoltura (E), la proteína de la matriz (M) y la proteína de la nucleocápside (N) y también este virus presenta varias proteínas accesorias (Fig. 1) (5). Se sabe, cual es el número de copias de cada una de estas proteínas presentes / virión: S (100), E (20), M (2000) y N (1000) (6).

>> Figura N°1: Esquema de la estructura SA-RS-CoV-2



Ensayos moleculares para la detección de ácidos nucleicos virales

Desde que la secuencia genética completa del virus SARS-CoV-2 se cargó en la plataforma GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data) (7), la disponibilidad de la secuencia completa del virus permitió el diseño de cebadores y sondas necesarias para el desarrollo de pruebas específicas de SARS-CoV-2. Algunas de las cuales detallaremos a continuación.

1- RT-PCR en tiempo real (Retrotranscripción seguida de amplificación por reacción en cadena de la polimerasa).

El proceso de diseño de una prueba de ácido nucleico para SARS-CoV-2 implicó dos pasos principales: (i) elección de la región a amplificar y diseño del cebador y (ii) optimización y prueba del ensayo. Corman y col. (8) analizaron varias secuencias del genoma viral relacionadas con el SARS y

descubrieron tres regiones que tenían secuencias conservadas: el gen *RdRP*, el gen *E* y el gen *N*. Los genes *RdRP* y *E* tenían una alta sensibilidad analítica para la detección (límite técnico de detección de 3,6 y 3,9 copias por reacción), mientras que el gen *N* presentaba una sensibilidad analítica más baja (8,3 copias por reacción).

Las etapas para las pruebas de RT-PCR, como el aprobado por los CDC y la OMS (9) incluyen tres pasos principales: recolección y transporte de muestras, lisis y purificación del ARN y amplificación. Por lo general, se recolecta la muestra con hisopo nasofaríngeo-orofaríngeo y se las transfiere a un vial conteniendo unos pocos mililitros de medio de transporte viral. De esta forma se transporta al laboratorio para su análisis. Luego, el ARN viral se purifica a partir de una fracción de la muestra usando kits de purificación de ARN basados en columnas o perlas magnéticas.

El ARN purificado eluído se amplifica

Análisis multidisciplinarios de alta complejidad.

Clínico humano
Bromatológico
Veterinario
Agronómico
Bioanalítica
Industrial y Medio Ambiente

De Bahía Blanca para todo el país.

IACA
LABORATORIOS

www.iaca.com.ar

utilizando una mezcla maestra de un solo paso que contiene RT y ADN polimerasa, con tres cebadores dirigidos a regiones específicas del genoma viral, Fig.2. Los cebadores dirigidos a un gen humano, como *RNaseP*, también se incluyen como un control positivo para los pasos del hisopado, extracción de RNA y amplificación. Los productos amplificados se pueden detectar utilizando sonda TaqMan o colorantes que se intercalan con el ADN y se establece un ciclo umbral de amplificación para distinguir los resultados positivos de los negativos. El resultado de una prueba generalmente se considera positivo si se observa amplificación para dos o más target virales, mientras que se considera negativo si se observa amplificación para el ARN control, pero no para ninguno de los target virales.

Las pruebas de diagnóstico molecular que utilizan la tecnología RT-PCR en tiempo real avalada por la OMS, van dirigidas a amplificar y detectar diferentes regiones genómicas de SARS-CoV-2. En general, los laboratorios de referencia en nuestro país están determinando los genes E, RdRP y RNaseP por esta metodología.

La RT-PCR se ha llevado a cabo tradicionalmente como un procedimiento de uno o dos pasos. La RT-PCR en tiempo real, cuando usa el procedimiento de un paso, utiliza un solo tubo que contiene los cebadores necesarios para ejecutar toda la reacción de RT-PCR y es, generalmente, el enfoque preferido para la detección de SARS-CoV-2; por ser rápido de configurar e implica un manejo limitado de la muestra, disminuyendo las posibilidades de errores de pipeteo y contaminación cruzada entre la RT y los pasos de PCR. Existen a la fecha, 65 kits basados en ácidos nucleicos aprobados en la ANMAT, para detectar el SARS-CoV-2, en donde el método más utilizado es la RT-PCR, usando muestras respiratorias (10).

El progreso en los ensayos de RT-PCR para la detección de SARS-CoV-2 se ha mejorado en forma expeditiva. Los ensayos iniciales tenían algunas limitaciones como lo que ocurría con la tasa de detección positiva, la misma era baja y rondaba en alrededor del 30 a 60%, lo que sugería una alta tasa de falsos negativos (11). Se especularon sobre varios factores que podían dar lugar a

esta alta tasa de falsos negativos, como: errores en el muestreo, selección inapropiada de muestras clínicas, variaciones individuales en la carga viral, entre otras, (12).

2- Amplificación Isotérmica de ácidos nucleicos

La amplificación isotérmica de los ácidos nucleicos es una alternativa que permite la amplificación a una temperatura constante y elimina la necesidad de un termociclador. Por lo tanto, se han desarrollado varios métodos basados en este principio. Estas técnicas incluyen: amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), amplificación de la recombinasa polimerasa (RPA), amplificación dependiente de helicasa (HDA), amplificación mediada por transcripción (TMA), entre otras (13).

2.1- Amplificación de la recombinasa polimerasa (RPA): En RPA, la amplificación isotérmica de fragmentos de ADN específicos se logra mediante la unión de cebadores oligonucleotídicos complementarios al ADN molde y la extensión por una ADN polimerasa (14). La fusión o melting de la cadena no es necesaria porque RPA emplea complejos primer-recombinasa ideados para escanear ADN bicatenario y facilitar la unión a la cadena en sitios complementarios. Las estructuras resultantes se estabilizan mediante proteínas de unión al ADN simple cadena que interactúan con la hebra desplazada, evitando así la expulsión del cebador por migración a la cadena ramificada. El desmontaje de la recombinasa deja el extremo 3' del oligonucleótido accesible para el acceso de la Bsu-ADN polimerasa del *Bacillus subtilis* y se produce la extensión del cebador. La amplificación exponencial se logra mediante la repetición cíclica de este proceso, figura N°3. La clave de RPA es el establecimiento de un entorno de reacción dinámico en donde hay un equilibrio entre el montaje y el desmontaje del complejo primers-recombinasa. La recombinasa que se ha usado es T4 UvsX (del fago T4) que se une cooperativamente a los primers en presencia de ATP. El complejo de nucleoproteína resultante hidroliza ATP favoreciendo el desmontaje espontáneo de la recombinasa. Esto conduce a su reemplazo por una proteína de unión al ADN monocatenario (T4 gp32), necesaria para la reacción.



PORQUE UN DIAGNÓSTICO PRECISO NECESITA RESULTADOS CONFIABLES.

Nuestro laboratorio integral está al servicio del profesional, brindando resultados confiables y asesoramiento en su interpretación, facilitando información precisa para colaborar en el diagnóstico, seguimiento y prevención de las enfermedades.

Nuestro compromiso: brindar un servicio personalizado a través de un equipo de especialistas, cumplir con los más exigentes estándares de calidad, y garantizar confiabilidad y exactitud en los resultados.

/ Biología Molecular / Hematología y Hemostasia / Microbiología / Endocrinología
/ Citometría de Flujo / Inmunoserología / Química Clínica / Virología



Consultar alcance en
www.oaa.org.ar



RIQAS



PLANTA DE LABORATORIO
Av. Scalabrini Ortiz 676

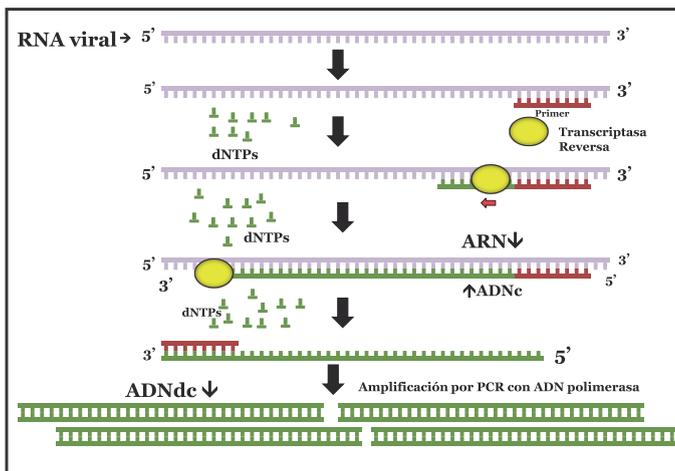
DPTO. COMERCIAL
4858-7061 al 63
laboratorio@stamboulian.com.ar

2206-6000

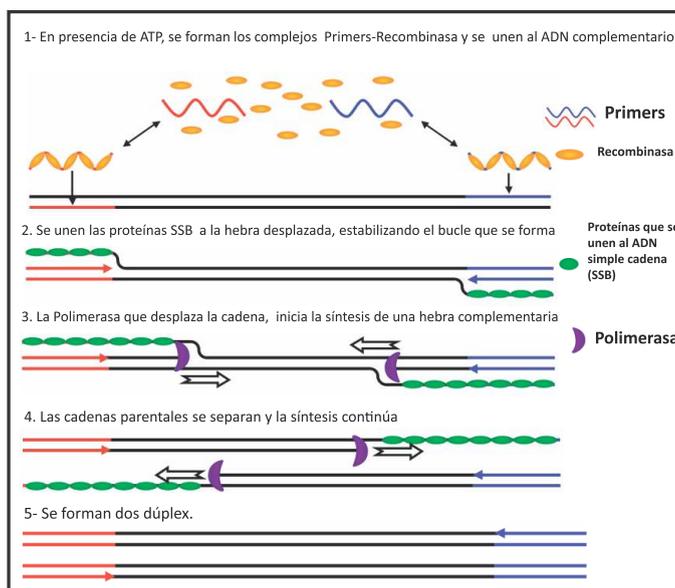
WWW.STAMBOULIAN.COM.AR

STAMBOULIAN
SERVICIOS DE SALUD

>> Figura N°2: La prueba estándar de oro: RT-PCR. La mayoría de las pruebas que se están implementando contra COVID-19 se basan en la reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR). La RT-PCR crea una copia de ADNc de un segmento específico del ARN viral, que se convierte en ADN doble cadena que se amplifica exponencialmente.



>> Figura N°3: Las proteínas recombinantes forman filamentos de recombinación con cebadores y los insertan en sitios complementarios en la doble hélice del ADN mediante la creación de un bucle de desplazamiento o bucle D. Las proteínas de unión a ADN monocatenario (SSB) estabilizan la apertura de la estructura de doble hélice y el bucle D. El desmontaje de la recombinasa permite el acceso a la polimerasa de desplazamiento de hebra para extender el extremo 3' de los cebadores a lo largo de la secuencia objetivo. Cuando esta secuencia se repite para cebadores opuestos, la amplificación exponencial se produce sin la necesidad de la desnaturalización

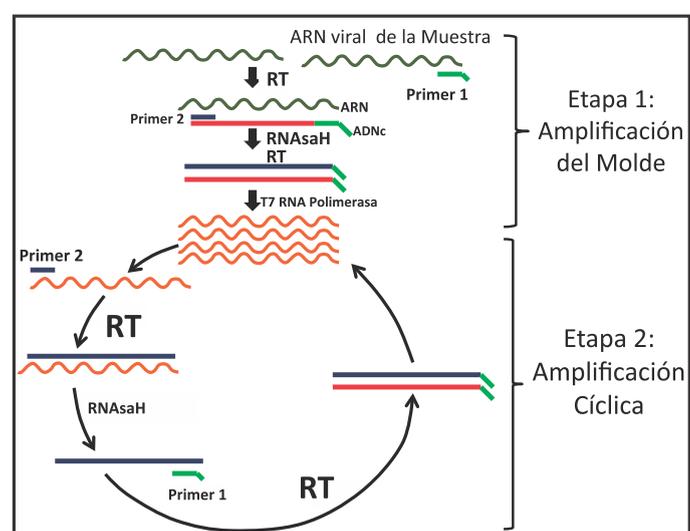


Algunos grupos han demostrado una alta sensibilidad y especificidad de la amplificación del target combinando RPA y LAMP en un protocolo

de amplificación de 2 etapas, denominado RAMP. Los cebadores LAMP externos pueden usarse para la amplificación de RPA y luego combinarse con los cebadores LAMP adicionales para una amplificación adicional en un solo tubo o dispositivo (15).

2.2- Amplificación mediada por transcripción (TMA): es una técnica de tubo único y es más eficiente que la RT-PCR. Esta prueba de diagnóstico molecular es utilizada en el sistema Panther Fusión de Hologic que permite un procesamiento inmediato y totalmente automatizado de muestras, incluida la extracción de ARN, la amplificación de secuencias target y detección en tiempo real de la presencia del virus (16). El sistema automatiza los pasos complejos involucrados en el diagnóstico molecular lo que acelera el diagnóstico y reduce las posibilidades de error en comparación con la configuración de un laboratorio que tenga muchos procesos manuales; esto lleva a que mejore el flujo de trabajo y lo que es más importante, el riesgo de contaminación del personal y del propio laboratorio. Utiliza una retrotranscriptasa reversa (actividad ADN polimerasa y nucleasa) y la T7 RNA polimerasa, se observan dos fases, figura N°4.

>> Figura N°4: Después de la síntesis del ADN copia, de cadena sencilla, que incluye el promotor T7, se genera un ADN bicatenario con un cebador adicional (primer 2) que posteriormente se transcribe en amplicones de ARN por la T7ARN polimerasa. Estos nuevos amplicones de ARN luego vuelven a entrar en el proceso de TMA permitiendo que este proceso de amplificación exponencial genere miles de millones de amplicones de ARN.



En la PRIMERA FASE, el Primer 1 de secuencia complementaria al RNA viral, incorpora en las hebras sintetizadas la secuencia de reconocimiento del promotor T7 de la RNA polimerasa. La RT sintetiza una hebra de ADNc, dando lugar a un híbrido RNA: DNA. Luego por su actividad de nucleasa mediada por la RNAsa H degrada el RNA. Luego se une el Primer 2 al ADN antisentido (-). Por acción de la RT copia el ADN da una ADN doble cadena. Posee el promotor T7 que será reconocido por T7 RNA polimerasa. Que dará lugar a cientos de copias de RNA antisentido. EN LA FASE 2 se repite el ciclo generando gran cantidad de copias de RNA antisentido (10^8 - 10^{10}). Esta prueba se puede realizar detectando un segmento (gen) o varios (formato multiplex) y el producto final se puede detectar por punto final o en tiempo real.

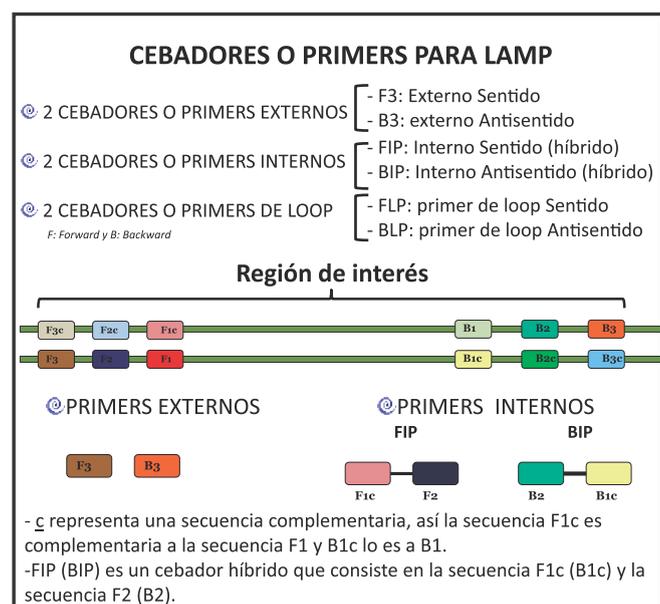
2.3- Retrotranscripción seguida de reacción de amplificación isotérmica mediada por bucle (RT-LAMP): Varios laboratorios y empresas han desarrollado y probado clínicamente pruebas de RT-LAMP para SARS-CoV-2, (3, 17). La reacción de amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP), ya sea a partir de ADN o RT-LAMP usando RNA es una técnica de amplificación rápida de una secuencia target de un ácido nucleico utilizando oligos o cebadores específicos, (figura N°5) y dos enzimas: una RT y una ADN polimerasa con capacidad de desplazamiento de cadena, como la Bst pol. En las pruebas de diagnóstico de LAMP el producto amplificado se detecta por turbidez (detectando un subproducto de la reacción), por color (adición de un colorante sensible al cambio del pH) o por fluorescencia (adición de un marcador fluorescente).

Proceso de Amplificación: La amplificación de los ADN se realiza a través de repeticiones de reacciones de elongación que ocurren a través de las regiones de asa que se forman en la estructura original para la amplificación de LAMP. En la primera etapa de la reacción se utilizan los *cebadores* internos (FIP y BIP) y externos (F3 y B3)

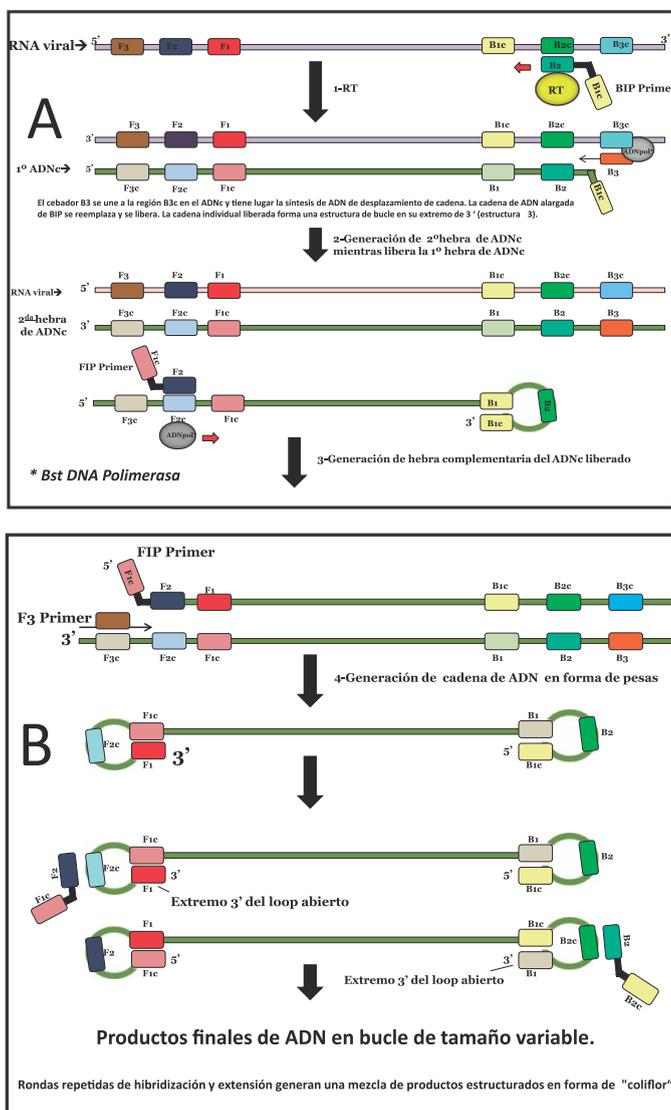
Cada uno de los *cebadores* internos tiene una secuencia complementaria a una de las cadenas de amplificación de la región terminal 3' idénticos a la región interna de la misma cadena en

el extremo 5'-terminal (figura 6A). La reacción de LAMP comienza cuando la secuencia F2 del primer FIP se alinea y se une a la secuencia blanco, la secuencia F1c del primer no es una secuencia complementaria y queda sin hibridar, entonces, la DNA polimerasa Bst sintetiza una primera cadena. En el espacio que quedó entre la secuencia blanco y F1c, la Bst desplaza la cadena y el primer F3 se alinea en su secuencia complementaria y a partir de aquí se sintetiza una nueva cadena, liberando la primera cadena sintetizada. En el extremo 3' de la cadena recién liberada, el primer BIP sigue el mismo proceso que FIP, la secuencia B2 del primer BIP alinea en la primera cadena liberada, la polimerasa sintetiza la cadena y B3 se alinea e inicia la copia de la cadena, liberando una segunda cadena, que contiene las regiones antisentido en los extremos, por lo que se alinean entre ellos formando la estructura que posee los bucles o asas en ambos extremos (forma de pesas) (figura 6B). De esta forma, los *primers* continúan alineándose con las regiones complementarias con reacciones de elongación que se repiten secuencialmente por la actividad de desplazamiento de cadena a una temperatura constante, formando diferentes estructuras de manera azarosa (figura 7), (18).

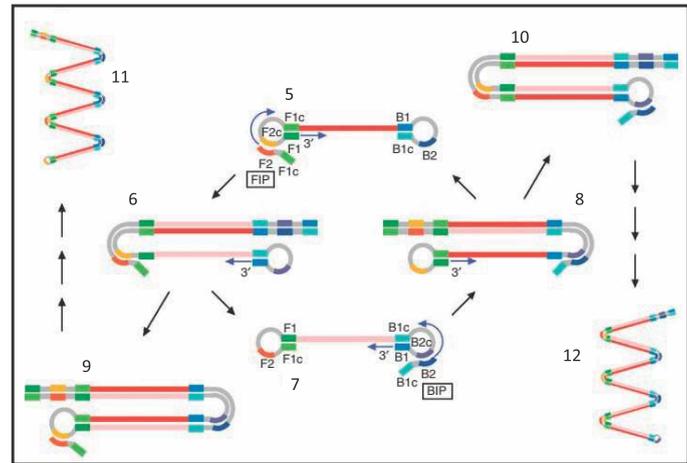
>> Figura N°5: LAMP utiliza tres pares de cebadores: dos cebadores internos, dos cebadores externos y dos cebadores de bucle. Los cebadores interno y externo se unen con el target y su extensión produce una estructura con forma de pesas, compuesta de dos bucles en cada extremo.



>> **Figura N°6: RT-LAMP:** (A): Paso 1: en el extremo 3' del ARN viral, la transcriptasa inversa y el cebador BIP inician la conversión de ARN a ADN. Paso 2: En el mismo extremo, la ADN polimerasa y el cebador B3 continúan generando la segunda cadena de ADN para desplazar y liberar la primera cadena de ADN. Paso 3: el cebador FIP se une a la cadena de ADN liberada y la ADN polimerasa genera la cadena complementaria. Paso 4: el cebador F3 se une al extremo 3' y la ADN polimerasa genera una nueva hebra mientras desplaza la vieja hebra. (B): El ciclo LAMP produce estructuras de ADN en bucle o asas en ambos extremos (forma de pesas, estructuras 5 y 7) de varios tamaños



>> **Figura N°7: Productos finales de RT-LAMP.** Se generan distintas estructuras en forma de bucle o loop de distinto tamaño. La estructura 5 da origen 6, 9 y 11 y la estructura 7 da origen a las estructuras 8, 10 y 12,



Proceso de Detección: Se han desarrollado varios ensayos de RT-LAMP para apuntar a diferentes regiones de genes de SARS-CoV-2 (19,20) con fluorescencia (20) o lecturas colorimétricas (19,21). (a) Una estrategia para producir fluorescencia es usar Calceína, un complejo de fluoresceína, (22). La fluorescencia de la Calceína se inhibe inicialmente cuando se une al manganeso. Los pirofosfatos generados a partir de las reacciones de amplificación de ADN secuestran el manganeso y liberan la calceína. La calceína libre puede unirse a los iones de magnesio, aumentando la intensidad de su emisión de fluorescencia. Usando Calceína, Yan et al. (20) desarrollaron un ensayo RT-LAMP para la detección visual de SARS-CoV-2. Identificaron correctamente 58/58 pacientes positivos y 72/72 negativos, confirmados con pruebas de RT-PCR paralelas. Este ensayo de RT-LAMP de los extractos de muestras de ARN de los pacientes solo requirió una incubación de 60 minutos a 63 °C. (b).

Las lecturas colorimétricas para técnicas de amplificación que utilizan polimerización enzimática también se pueden lograr utilizando indicadores de pH. Durante la síntesis de ADN, cada adición de un dNTP (desoxirribonucleósido trifosfato) libera un ión de hidrógeno que disminuye el pH de la solución. La disminución del pH es proporcional a la síntesis del ADN. Para la lectura visual de su RT-LAMP, Baek et al. (21) utilizaron rojo fenol, que cambia el color de rosa (pH 8.8) a amarillo (pH <8.0), para indicar la aparición de amplificación. Después de una amplificación de 30 minutos a 65 °C, RT-LAMP logró la detección de 200 copias de ARN de SARS-CoV-2 extraído de muestras de pacientes con COVID-19. El kit Covid 19-Neokit usa una RT-LAMP. La reacción de LAMP da como resultado, grandes cantidades de subpro-

ELITE InGenius

PCR Real Time

Totalmente Automatizado

COVID-19
CORONAVIRUS
 -DISPONIBLE-

📍 Patógenos de trasplante

- CMV
- EBV
- BKV
- VZV
- HSV1
- HSV2
- Parvovirus B19
- Adenovirus
- Enterovirus
- JCV
- HHV6
- HHV7
- HHV8
- Toxoplasma gondii
- Hepatitis E (RUO)
- WNV
- Aspergillus

🏠 Infecciones Resistencia a Antibióticos

- MRSA/SA
- S. aureus
- mecA/mecC
- C. difficile
- Toxin A
- Toxin B
- CRE 21
- KPC
- IMP, VIM, NDM
- OXA
- ESBL
- CTX-M-1,15
- CTX-M-9,14
- Colistin Resistance
- mcr1
- mcr2

🗣️ Meningitis

- Viral panel 1
- HSV1
- HSV2
- VZV
- Viral panel 2
- Enterovirus
- Parechovirus
- Adenovirus
- Bacterial panel
- N. meningitidis
- S. pneumoniae
- H. influenzae

👃 Infecciones Respiratorias

- Viral panel
- Flu A
- Flu B
- RSV
- Bacterial panel
- C. pneumoniae
- M. pneumoniae
- Legionella pn.
- MTB + Resistance
- MTB complex
- Rifampicin resistance
- Isoniazid resistance
- COVID-19

💧 Onco-Hematológicas

- Coagulation factors panel
- Factor V
- Factor II
- MTHFR

👩 Enfermedades de transmisión sexual

- MG + Resistance
- M. genitalium
- Macrolide resistance
- STI PLUS Panel
- C. trachomatis
- N. gonorrhoeae
- M. genitalium
- T. vaginalis
- C. trachomatis

👤 Gastro-Intestinal Infection

- Norovirus
- Genotypes I & II
- Viral Panel
- Rotavirus
- Adenovirus
- Astrovirus
- Bacterial panel
- Campylobacter spp.
- Salmonella spp.
- Y. enterocolitica
- Parasitic panel
- G. lamblia
- C. parvum
- E. histolytica


BIODIAGNOSTICO

+54 11 4300 9090 | info@biodiagnostico.com.ar | www.biodiagnostico.com.ar

ducto de iones pirofosfato que reaccionan con los iones Mg^{2+} para formar el producto insoluble pirofosfato de magnesio. Dado que la concentración de iones Mg^{2+} disminuyen a medida que avanza la reacción de LAMP se mide la concentración de iones de Mg^{2+} como medida del progreso de la reacción. Para ello se utiliza azul de hidroxinaftol, en donde una reacción positiva se indica mediante un cambio de color de violeta a azul cielo(23).

Ventajas: LAMP es altamente específico porque usa un mayor número de cebadores.

La reacción es rápida (1-2h) a 60-65 °C con un límite analítico de detección de 75 copias por μ L. El enfoque es simple de operar, fácil de visualizar para la detección, tiene menos señal de fondo y no necesita un termociclador. Los inconvenientes de LAMP son los desafíos de optimizar los cebadores y las condiciones de reacción.

Algunos de los ensayos moleculares disponibles actualmente para detectar SARS-CoV-2 utilizan tecnología RT-LAMP en tiempo real, como la prueba ID NOW COVID-19 de Abbott. Y los kits de producción nacional ELA CHEMSTRIP COVID-19 y COVID-19 NEOKIT con tecnología RT-LAMP asociado a ensayos de flujo lateral.

3-Ensayos basados en Repeticiones Palindrómicas Cortas Intercaladas Regularmente Agrupadas (Cluster regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)

El término CRISPR es el nombre de secuencias repetitivas presentes en el ADN de las bacterias, que funcionan como autovacunas. Contienen el material genético de los virus que han atacado a las bacterias en el pasado, de esta forma les permite reconocer la infección y así defenderse cortando el ADN de los invasores. En caso de una segunda infección CRISPR se transcribe y se procesa a ARN CRISPR (ARNcr), se acopla con Cas y reconoce el transcrito del patógeno y Cas degrada el ARNm. Ciertas enzimas en las familias Cas9, Cas12 y Cas13 pueden programarse para atacar y cortar secuencias de ARN virales. Al diseñar y sintetizar un ARN guía, podemos usar la enzima Cas9 para cortar en un lugar específico de un

genoma. Esta capacidad es significativa ya que abre la posibilidad de la edición directa del genoma, dentro de una célula. Dos tipos de proteínas Cas, Cas12 y Cas13 son particularmente útiles para desarrollar plataformas simples, portátiles y económicas para detectar de manera confiable los ácidos nucleicos a nivel molecular(24).

Las técnicas CRISPR, que utilizan Cas12 y Cas13, se han incorporado a los enfoques de amplificación isotérmica para la detección de SARS-CoV-2, figura n° 8. La secuencia de direccionamiento CRISPR debe incluirse al diseñar cebadores para la amplificación de ARN de SARS-CoV-2. La secuencia de reconocimiento CRISPR está dentro del amplicón amplificado y entre los cebadores. El complejo crRNA-Cas escanea amplicones y se une específicamente a aquellos con la secuencia diana complementaria. Al detectar el target, las proteínas Cas se activan para cortar la cadena de RNA por Cas13 o de DNA por Cas12 (25).

Las zonas de reconocimiento para CRISPR, son segmentos de ácidos nucleicos cortos, monocatenarios marcados doblemente con un fluoróforo y un quencher, que pueden usarse como sustratos (26). La escisión de esta sonda separa el quencher del fluoróforo y permite detectar fluorescencia que se pueden cuantificar en tiempo real o visualizar bajo luz LED. Alternativamente, las sondas marcadas doblemente con biotina y FAM (Fluorescein amidite) se las usa para la detección en tiras reactivas (ensayo de flujo lateral). Las nanopartículas de oro (AuNP) en la tira de flujo lateral están recubiertas con anticuerpos anti-FAM para capturar FAM. En ausencia del target, la sonda marcada permanece intacta y es capturada por estreptavidina en la línea de control, lo que resulta en una acumulación de AuNP que genera una banda roja, indicando una prueba negativa. En presencia del target de ARN del SARS-CoV-2, los amplicones activan la proteína Cas para escindir los indicadores de señal, lo que permite que se libere FAM y los AuNP adjuntos viajan a la línea de prueba, produciendo otra banda roja que indica una prueba positiva. Las sondas marcadas intactas que están en exceso también son capturadas en la línea de control. La detección basada en CRISPR verifica las secuencias de los productos a partir de la amplificación isotérmica y

solo produce señal cuando existen las secuencias correctas, lo que proporciona una mayor especificidad analítica que el uso de fluoróforos no específicos o indicadores de pH. Por otro lado un ensayo que usa solamente Cas12 o Cas13 no es lo suficientemente sensible como para detectar el ARN viral en las muestras. La amplificación isotérmica logra una amplificación exponencial en un corto período de tiempo, lo que supera esta limitación de la tecnología CRISPR en términos de sensibilidad analítica.

Una de las plataformas de diagnóstico CRISPR pioneras, DETECTR, se ha utilizado con LAMP. Broughton y col. (27) publicaron un protocolo usando DETECTR para las pruebas de SARS-CoV-2, utilizaron RT-LAMP para amplificar el ARN de SARS-CoV-2 extraído, lo que condujo a la generación de productos de dsDNA. Los productos de dsDNA se detectaron usando la escisión colateral de reporteros por Cas12 y las tiras de flujo lateral se utilizaron para producir señales de lectura. El

método fue capaz de detectar 10 copias de ARN de SARS-CoV-2 por microlitro de extracto de ARN. La amplificación y detección se puede lograr en 30 minutos, lo cual es particularmente valioso para las pruebas rápidas.

Otra de las plataformas de CRISPR mediada por RPA-Cas13, llamada SHERLOCK se la ha asociado con RPA. Zhang y sus colegas lanzaron un protocolo para la detección de SARS-CoV-2, (28). Después de la extracción de ARN del SARS-CoV-2, utilizaron una RT-RPA para amplificar exponencialmente el ARN del SARS-CoV-2, generando productos de ADNds. Después de la reacción de RPA a 42 °C durante 25 min, se usa una alícuota de la solución de RPA. Como Cas13 detecta target de ARN agregaron un paso para transcribir dsDNA a ARN, (utilizando la ARN polimerasa T7). A través del corte de Cas13 escinde un indicador y los productos se detectan por LFA, así se detectan hasta 10 copias / μ L. La amplificación y detección se puede completar en aproxi-

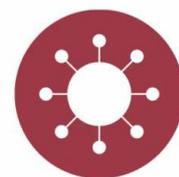


¡NUEVO!

DESARROLLO ARGENTINO

COVID-19

SCHEP SARS-CoV-2 RT-PCR DUO



- ✓ Prueba de PCR para la detección específica de SARS-CoV-2.
- ✓ Detección rápida y simple mediante transcripción inversa y PCR en tiempo real en un solo paso con cebadores y sondas específicos.
- ✓ Master Mix de cada gen lista para usar.
- ✓ Alta sensibilidad debido a la detección simultánea de dos secuencias diana de SARS-CoV-2.
- ✓ Aprobado por ANMAT.

DATOS TÉCNICOS

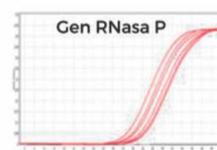
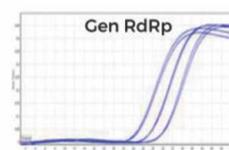
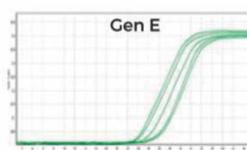
- Transcripción inversa y PCR en tiempo real en un sólo paso (aprox. 90 min).
- Reactivos: Todos incluidos y listos para usar.
- LOD: 0.670 cp/ μ L.
- Canal de detección: FAM (Verde)
- Formato: 30 y 120 reacciones.
- Código: NP05-30, NP05-120

(54-11) 4857.5005 @ VENTAS@BIOCIENTIFICA.COM.AR
WWW.BIOCIENTIFICA.COM.AR ¡SEGUINOS EN LAS REDES!

Biocientífica
Calidad en Reactivos. Excelencia en Biotecnología.

VER MÁS SOBRE
ESTE PRODUCTO:

CLICK
ACÁ



madamente 1 h.

4- Ensayo de flujo lateral (LFA)

Los LFA consisten en cuatro membranas diferentes que están incrustadas lateralmente. Las cuatro membranas son: almohadilla de muestra, almohadilla de liberación de conjugado, membrana de nitrocelulosa y almohadilla absorbente. El producto de la amplificación se aplica sobre la almohadilla de muestra (29).

La almohadilla de liberación del conjugado proporciona una membrana para el asentamiento de sustancias inductoras de color. Las nanopartículas de oro son una de las principales sustancias inductoras de color en los LFA y se conjugan con la macromolécula del detector y el detector de macromolécula es un anticuerpo u oligonucleótido.

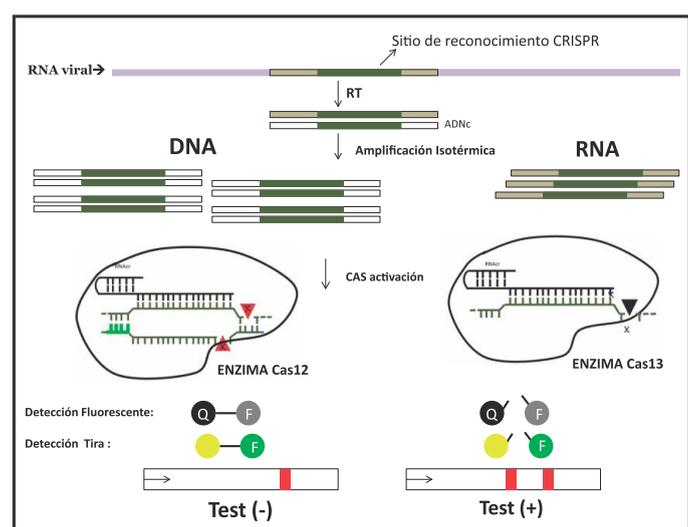
Al aplicar la muestra, las fuerzas capilares transfieren el líquido de la muestra a la almohadilla absorbente a través de la almohadilla de liberación del conjugado y la membrana de nitrocelulosa. La migración lateral del líquido de muestra a la membrana de nitrocelulosa desplaza los conjugados hacia las "moléculas de captura" en las líneas de control y prueba. Las moléculas de captura son especies inmovilizadas en la membrana de nitrocelulosa y están diseñadas para acoplarse a conjugados ante la presencia del target.

Las moléculas de captura en las líneas de control están diseñadas para formar una interacción estable con los conjugados y formar una línea roja sin tener en cuenta la presencia o ausencia del target.

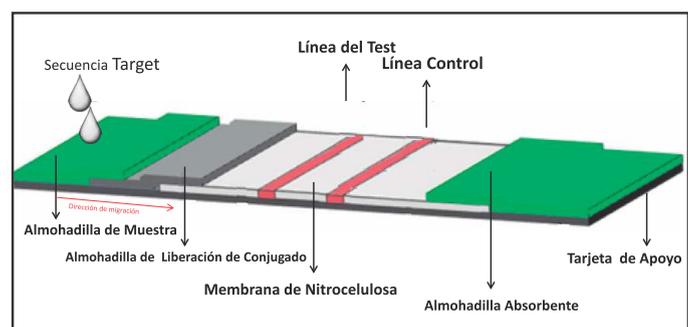
Finalmente, el exceso de conjugado y muestra de líquido son llevados a la almohadilla absorbente por fuerzas capilares, figura N° 9 (30).

>> Figura N°8: Esquema de CRISPR para la detección de SARS-CoV-2. El ARN del SARS-CoV-2 se extrae primero de las muestras de pacientes. El ARN purificado luego se transcribe inversamente a ADNc y se amplifica a través de técnicas isotérmicas, por ejemplo, RT-RPA o RT-LAMP. Los amplificones de ADNc se agregan directamente al siste-

ma CRISPR-Cas12 o se transcriben primero a ssRNA y luego se agregan al sistema CRISPR-Cas13. Cas12 es activado por dsDNA con una secuencia que señala para el corte del ssADN de la sonda marcada. Cas13 reconoce secuencias de ARN que contiene secuencias que señala el corte de sonda de RNA marcadas. El corte de la sonda separa el fluoróforo del quencher y permite su cuantificación. En un ensayo de fluorescencia, la escisión de la sonda marcada en forma doble, genera fluorescencia. En un ensayo de flujo lateral (LFA), conduce a la aparición de una línea en la zona del test.

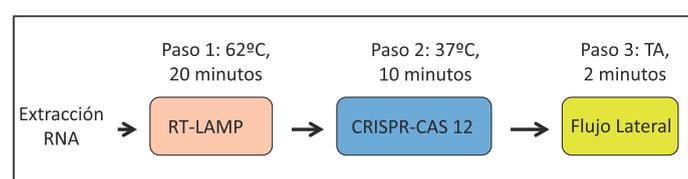


>> Figura N°9: Ensayo de flujo lateral.

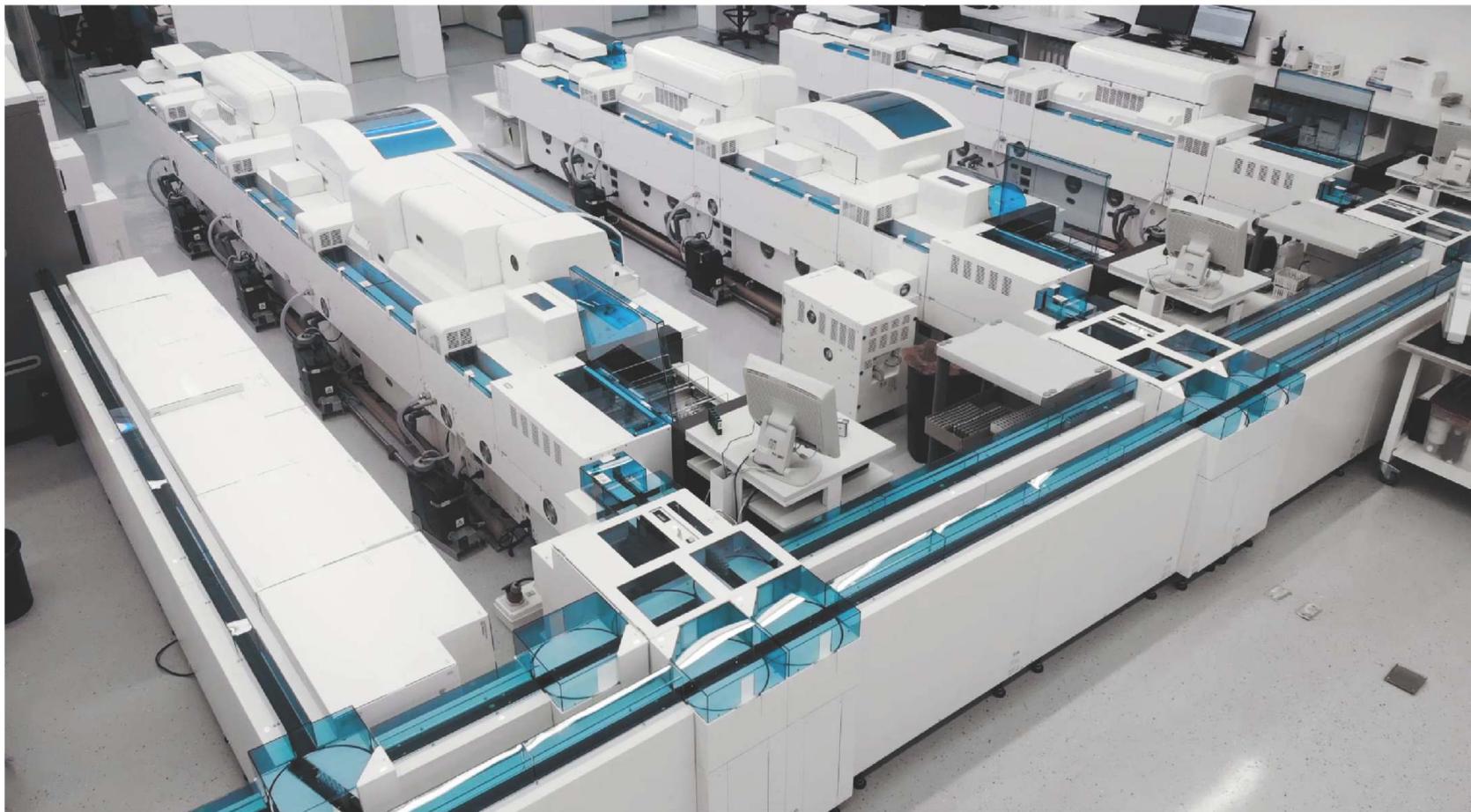


En resumen, por ejemplo, los pasos en un test rápido, sería una combinación de distintas técnicas como las que mostramos en la figura N° 10.

>> Figura N°10: Diagrama de flujo de los pasos involucrados en un test rápido.



MÁS DE 40 AÑOS DE TRAYECTORIA
EXCELENCIA DIAGNÓSTICA AL SERVICIO DE LA SALUD



Un laboratorio de vanguardia internacional en la Argentina.

Tecnología y profesionales con los más altos valores humanos abocados a ofrecer la máxima precisión y calidad diagnóstica para el bienestar de nuestros pacientes.

Labmedicina
ANÁLISIS CLÍNICOS

Acreditado: NORMA - ISO 15189*

Alcances de acreditacion en: www.oaa.org.ar

 (+011) 154 092 2001  (+011) 5263 9911  info@labmedicina.com labmedicina.com

>>> CONCLUSIÓN

Como lo discutimos en esta revisión existen métodos de amplificación que son competitivos con la PCR y que se benefician de la simplificación proporcionada por el enfoque isotérmico (31). Los métodos isotérmicos son particularmente adecuados para el desarrollo de una nueva generación de dispositivos de diagnóstico para aplicaciones de medicina de precisión, como también en entornos con recursos limitados. Se observa un gran potencial con el desarrollo de técnicas y dispositivos aplicados a nuevos test de diagnósticos de uso en laboratorios de bioquímica.

Agradecimientos

Los autores agradecen el soporte de Ciencia y Técnica Universidad Nacional de San Luis (UNSL) (PROICO 2-2318).

MFA tiene una beca EVC-CIN (Res. 403/18).

>>> REFERENCIAS

1. <https://covid19.who.int/>
2. <https://www.argentina.gob.ar/coronavirus/informes-diarios>
3. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/virus-requests.html>
4. Linda J. Carter, Linda V. Garner, Jeffrey W. Smoot, Yingzhu Li, Qiongqiong Zhou, Catherine J. Saveson, Janet M. Sasso, Anne C. Gregg, Divya J. Soares, Tiffany R. Beskid, Susan R. Jervey, and Cynthia Liu. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis. *ACS Central Science* 2020 6 (5), 591-605. DOI: 10.1021/acscentsci.0c00501
5. Guo, Y.-R. y col. 2020. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Mil. Med. Res.* 7 (1), 11. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7068984/>
6. Bar-On, Y. M.; Flamholz, A.; Phillips, R.; Milo, R. SARS-CoV-2 (COVID-19) by the numbers. *Elife* 2020, 9, e57309. DOI:10.7554/eLife.57309.
7. <https://www.gisaid.org/>
8. Corman Victor M, Landt Olfert, Kaiser Marco, Molenkamp Richard, Meijer Adam, Chu Daniel KW, Bleicker Tobias, Brünink Sebastian, Schneider Julia, Schmidt Marie Luisa, Mulders Daphne GJC, Haagmans Bart L, van der Veer Bas, van den Brink Sharon, Wijsman Lisa, Goderski Gabriel, Romette Jean-Louis, Ellis Joanna, Maria, Peiris Malik, Goossens Herman, Reusken Chantal, Koopmans Marion PG, Drosten Christian. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
9. Directrices de Laboratorio para la Detección y Diagnóstico de la Infección con el Nuevo Coronavirus 2019 (2019nCoV). <https://www.paho.org/es/documentos/directrices-laboratorio-para-deteccion-diagnostico-infeccion-con-nuevo-coronavirus-2019>
10. Listado de reactivos autorizados ante la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) para COVID-19: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/reactivos-covid-19>.
11. Ai T.; Yang Z.; Hou H.; Zhan C.; Chen C.; Lv W.; Tao Q.; Sun Z.; Xia L. Correlation of chest CT and RT-PCR testing in coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology* 2020, 200642 .10.1148/radiol.2020200642.
12. Oh M.-D.; Park W. B.; Choe P. G.; Choi S.-J.; Kim J.-I.; Chae J.; Park S. S.; Kim E.-C.; Oh H. S.; Kim E. J.; Nam E. Y.; Na S. H.; Kim D. K.; Lee S.-M.; Song K.-H.; Bang J. H.; Kim E. S.; Kim H. B.; Park S. W.; Kim N. J. Viral load kinetics of MERS coronavirus infection. *N. Engl. J. Med.* 2016, 375 (13), 1303–1305. 10.1056/NEJMc1511695
13. Pooria Gill & Amir Ghaemi (2008) Nucleic Acid Isothermal Amplification Technologies—A Review, Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids, 27:3, 224-243, DOI:10.1080/15257770701845204
14. Piepenburg O, Williams CH, Stemple DL, Armes NA (2006) DNA detection using recombination proteins. *PLoS Biol* 4(7): e204. DOI:10.1371/journal.pbio.0040204
15. Stringer, O., Andrews, J., Greetham, H. et al. TwistAmp® Liquid: a versatile amplification method to replace PCR. *Nat Methods* 15, 395 (2018).
16. Gorzalski AJ, Tian H, Laverdure C, Morzunov S, Verma SC, VanHooser S, Pandori MW. High-Throughput Transcription-mediated amplification on the Hologic Panther is a highly sensitive method of detection for SARS-CoV-2. *J Clin Virol.* 2020;129:104501. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104501.
17. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VYC, Chen H, Mubareka S, Gubbay JB, Chan WCW. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano.* 2020;14(4):3822-3835.
18. Tomita N, Mori Y, Kanda H, Notomi T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of gene sequences and simple visual detection of products. *Nat Protoc.* 2008;3(5):877-882
19. Yu L.; Wu S.; Hao X.; Dong X.; Mao L.; Pelechano V.; Chen W.-H.; Yin X. Rapid detection of COVID-19 coronavirus using a reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) diagnostic platform. *Clin. Chem.* 2020, 10.1093/clinchem/hvaa102.
20. Yan C.; Cui J.; Huang L.; Du B.; Chen L.; Xue G.; Li S.; Zhang W.; Zhao L.; Sun Y.; Yao H.; Li N.; Zhao H.; Feng Y.; Liu S.; Zhang Q.; Liu D.; Yuan J. Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse

transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clin. Microbiol. Infect.* 2020, 26 (6), 773–779. 10.1016/j.cmi.2020.04.001.

21. Baek Y. H.; Um J.; Antigua K. J. C.; Park J.-H.; Kim Y.; Oh S.; Kim Y.-I.; Choi W.-S.; Kim S. G.; Jeong J. H.; Chin B. S.; Nicolas H. D. G.; Ahn J.-Y.; Shin K. S.; Choi Y. K.; Park J.-S.; Song M.-S. Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification as a rapid early-detection method for novel SARS-CoV-2. *Emerging Microbes Infect.* 2020, 9 (1), 998–1007. 10.1080/22221751.2020.1756698.

22. Fluorescent Detection Reagent (Eiken). <http://loopamp.eiken.co.jp/e/products/fluore/img/01.pdf> (accessed 2020-05-11)

23. Motoki Goto, Eiichi Honda, Atsuo Ogura, Akio Nomoto, and Ken-Ichi Hanaki Colorimetric detection of loop mediated isothermal amplification reaction by using hydroxy naphthol blue. *BioTechniques* 46:167-172. doi 10.2144/000113072.

24. <https://mammoth.bio/diagnostics/>

25. Chen JS, Ma E, Harrington LB, Da Costa M, Tian X, Palefsky JM, Doudna JA (2018) CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science* 360:436–439. <https://doi.org/10.1126/science.aar6245>

26. Guo, L., Sun, X., Wang, X. et al. SARS-CoV-2 detection with CRISPR diagnostics. *Cell Discov* 6, 34 (2020).

27. Broughton, J.P., Deng, X., Yu, G. et al. CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nat Biotechnol* 38, 870–874 (2020).

28. Zhang F.; Abudayyeh O. O.; Gootenberg J. S.. A protocol for detection of COVID-19 using CRISPR diagnostics. 2020, available from [www.broadinstitute.org/files/publications/special/COVID19%20detection%20\(updated\).pdf](http://www.broadinstitute.org/files/publications/special/COVID19%20detection%20(updated).pdf) (accessed 2020-05-11)

29. Katarzyna M. Koczula and Andrea Gallotta: Lateral flow assays. *Essay Biochem.* 2016 Jun 30; 60(1): 111–120.

30. Aktas, G.B., Wichers, J.H., Skouridou, V. et al. Nucleic acid lateral flow assays using a conjugate of a DNA binding protein and carbon nanoparticles. *Microchim Acta* 186, 426 (2019). <https://doi.org/10.1007/s00604-019-3544-0>

31. Giuffrida MC, Spoto G. Integration of isothermal amplification methods in microfluidic devices: Recent advances. *Biosens Bioelectron.* 2017; 90:174-186. ■



iCHROMA™ II

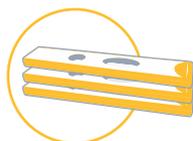


Resultados de anticuerpos anti SARS-CoV-2 en 10 minutos

Sistema portátil de inmunoensayo por fluorescencia (FIA)



Muestra: 10 µl de suero, plasma o sangre total.



Kits de 25 determinaciones.



Lectura automatizada de la reacción.



Resultados cuantitativos para IgM e IgG.



MANLAB®
Diagnóstico Bioquímico y Genómico

Autoanticuerpos anti ZnT8 en pacientes con Diabetes Mellitus

>>> La presencia de autoanticuerpos en pacientes adultos define un subtipo de diabetes denominada diabetes autoinmune latente del adulto (LADA) lo que significó el advenimiento de nuevos conceptos fisiopatológicos y clínicos. La determinación de anticuerpos anti ZnT8 puede ser considerado como un marcador adicional que aumenta la sensibilidad de detección de autoinmunidad en pacientes con DM1.

>>> AUTORES

Gastelú R., Jefe del Área de Endocrinología, Manlab
E-mail: ricardo.gastelu@manlab.com.ar

>>> INTRODUCCIÓN

La autoinmunidad frente a la célula beta pancreática es característica de la DM1 y diversos autoanticuerpos se utilizan como marcadores para el diagnóstico: IAA (anti-insulina), GAD (anti-descarboxilasa del ácido glutámico) e IA-2 (anti-tirosina fosfatasa IA2). El transportador de Zinc 8 (ZnT8), ha sido identificado recientemente como uno de los blancos de la autoinmunidad en este tipo de diabetes.

El transportador de Zinc

La isoforma 8 del ZnT8 es específico de las células pancreáticas, es una proteína de 369 aminoácidos codificada por el gen SLC30A8 localizado en el cromosoma 8 en la posición q24.11. Presenta seis dominios de transmembrana y un dominio rico en histidina entre la cuarta y la quinta hélice (es uno de los sitios conocidos a los que se une la molécula de zinc).

Su sobreexpresión en cultivos de islotes de células conduce a la secreción de insulina. Luego se ha demostrado la presencia de anticuerpos anti-ZnT8 en el 60-80% de los pacientes con diabetes mellitus tipo I (DM1) de reciente diagnóstico, y los estudios preliminares parecen indicar que son buenos predictores de la enfermedad.(1,2)

Analizadores de hemostasia Soluciones para cada laboratorio

Confianza, conveniencia y eficiencia en costos.



Sistema BFT™ II



Sysmex® CA-600 series



Sysmex® CS-2500



Sistema BCS® XP

La línea completa de analizadores de hemostasia de Siemens Healthineers cubre las necesidades de todo tipo de laboratorio, permitiendo automatizar los procesos y obteniendo una mayor calidad y productividad al minimizar el margen de error.

Simplicidad. Control. Mejores resultados.

[siemens-healthineers.com/ar/](https://www.siemens-healthineers.com/ar/)

SIEMENS
Healthineers

El ZnT8 participa en el transporte de Zn^{++} desde el citoplasma hacia el interior del gránulo de secreción de insulina. La presencia del catión es esencial para el almacenamiento de la insulina, y para la secreción de la hormona frente al estímulo de glucosa.(3,4)

La insulina se sintetiza en el retículo endoplasmico de las células betas de los islotes pancreáticos como una preproinsulina, con la cadena A, el péptido de conexión, la cadena B y un péptido señal, el cual va ser hidrolizado, transformándose la molécula en la proinsulina luego de un cambio conformacional en donde se forman los tres puentes disulfuros que van a mantener unidas las cadenas A y B. La proinsulina luego de pasar por el aparato de Golgi, ingresa al gránulo de secreción de insulina, allí 6 moléculas de proinsulina se unen con dos iones Zinc, para formar el hexámero de proinsulina.

Esta proinsulina hexamérica se convierte en el hexámero de insulina por escisión del péptido C por la acción de enzimas proteolíticas, conocidas como PC1/3 (prohormona convertasa 1/3), PC2 (prohormona convertasa 2) y CPE (Exoproteasa Carboxipentidasa E).(5)

En relación con los epítopes reconocidos por los anticuerpos anti-ZnT8, se ha descrito que el 80% de los sueros de pacientes con DM tipo 1 y anti-ZnT8 positivos reconocen el dominio C-terminal de ZnT8 (residuos 268-369) resultando muy poco frecuente la presencia de anticuerpos que reconozcan al fragmento N-terminal (residuos 1-74).

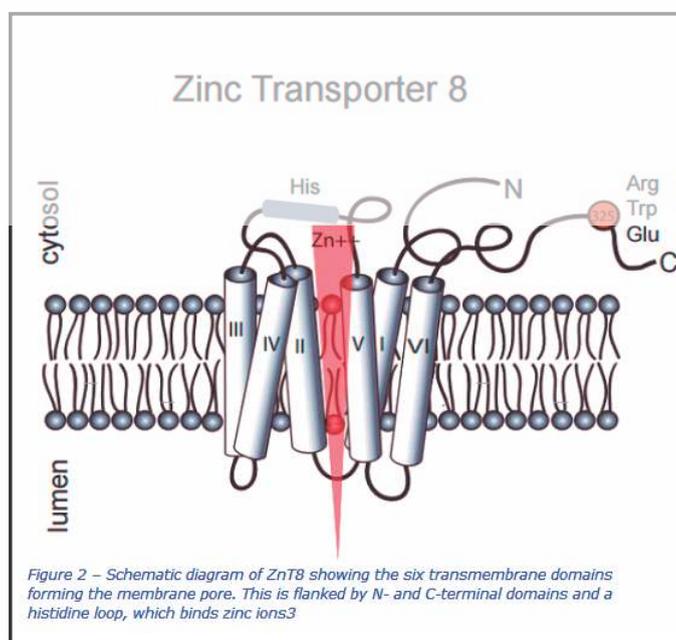
El polimorfismo genético en la población humana en el codón del aminoácido 325 lleva a la expresión de tres variantes proteicas: Arginina (R) 325, triptófano (W) 325 y muy raramente glutamina(R)325.(6)

La ausencia experimentalmente provocada del ZnT8 en ratones knock out produce disminución de las concentraciones del catión en la célula β , generando gránulos de almacenamiento atípicos, vacíos e inmaduros y un aumento de la relación plasmática proinsulina/insulina. En efecto, el ZnT8 es la principal herramienta con la que cuenta la célula β pancreática para proveer el zinc

destinado al procesamiento, maduración y almacenamiento de la insulina, y en consecuencia, presenta un rol activo en la regulación de la homeostasis de la glucosa.(7)

En contraste con otros anticuerpos, los anti-ZnT8 no parecen estar asociados con el antígeno leucocitario humano (HLA) de clase II y por lo tanto, podrían ser de especial valor en las personas con bajo riesgo genético en aquellos donde el perfil de otros autoanticuerpos es negativo.(8)

Diagrama esquemático de ZnT8 que muestra los seis dominios transmembrana que forman el poro de la membrana.(9)



Autoinmunidad en los distintos tipos de Diabetes Mellitus

La diabetes mellitus (DM) comprende una serie de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia como consecuencia de defectos en la secreción y/o acción de la insulina; cuando no es tratada puede derivar en complicaciones a largo plazo, disfunción y falla de diferentes órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos.

La DM y sus complicaciones constituyen la tercera causa de muerte en los países industrializados, después de las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Alrededor del 5-6% de la población mundial padece alguna de las formas de esta enfermedad, la cual muestra una tendencia de

continuo crecimiento.

Se distinguen dos tipos principales de la enfermedad: la DM tipo 1 y la DM tipo 2, aunque existen otras categorías, entre ellas, la diabetes autoinmune latente del adulto (LADA) para identificar a un subgrupo de pacientes adultos que sufren un proceso autoinmune e inicialmente no requieren insulina (10-11). Se ha propuesto reemplazar el nombre de LADA por el de diabetes autoinmune, ya que este proceso inmune puede ocurrir en todas las edades, poblaciones, fenotipos, con diferentes cargas genéticas etc.

La principal causa de la DM tipo 2 es una resistencia de los tejidos periféricos a la acción de la insulina, asociada a un grado variable de disfunción secretoria. Ambas causas, a su vez, se correlacionan con la presencia de determinantes genéticos y factores ambientales, de ahí que la DM tipo 2 haya sido definida como una enfermedad poligénica y multifactorial.

La diabetes tipo 1, en cambio, es una enfermedad autoinmune mediada por una combinación de factores genéticos (principalmente a través del sistema HLA) y desencadenantes ambientales (probablemente relacionado con virus, tóxicos, eventos gestacionales, factores dietéticos: déficit de vitamina A y D o sobrepeso en adolescentes), resultando en la infiltración linfocítica de los islotes pancreáticos, desarrollo de autoinmunidad humoral, con aparición de auto-

anticuerpos, destrucción de las células beta y dependencia de insulina exógena de por vida. (12)

En la patogénesis de la Diabetes tipo 1 (DM1) se puede diferenciar tres fases importantes: la fase I, caracterizada por la presencia de infiltrados mononucleares en los islotes pancreáticos; la Fase II denominada comúnmente prediabetes, en donde se observa la presencia de diversos anticuerpos dirigidos contra las células del islote pancreático y que son detectables en alrededor del 70 al 90% de los pacientes en el momento del diagnóstico y que corresponde a las primeras señales del comienzo del proceso autoinmune, cuando la masa de células betas cae al 50%, y lo único que se observa es una intolerancia a la glucosa o una glucosa alterada en ayunas.

Y la Fase III, en donde se activan una serie de células y moléculas que son las encargadas del proceso autoinmune final y que controlan el mecanismo que produce la injuria de la célula beta pancreática, es cuando la masa de células betas disminuye al 10%, y tenemos el comienzo clínico de la enfermedad (DM tipo 1).

El inicio del proceso autoinmune está marcado por la presentación de un péptido diabético al sistema inmune el cual puede tener diversos orígenes y de los cuales se pueden mencionar algunos antígenos virales, antígenos dietarios o la propia presentación de autoantígenos. Este fenómeno produce una respuesta inmu-

DIAGNOS MED S.R.L. 

KIT ELISA PARA LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LA CALPROTECTINA FECAL

Información Técnica del kit

Fabricante: Diasource Diagnostics
 Metodología: Elisa
 Catalogo: KAPEPKT849
 Presentación: 96 determinaciones
 Tipo de Muestra: Fecal

Este kit cuenta con la posibilidad de solicitar a parte los tubos recolectores de muestra.

Este producto se encuentra registrado ante ANMAT, realizamos pedidos mensuales, consultar por cierres.

Para mayor información comunicarse a:
 (011)4552-2929

diagnosmed@diagnosmed.com
 promocion2@diagnosmed.com

www.diasource-diagnostics.com



nológica que en su fase activa genera una pérdida general en la tolerancia hacia el péptido diabético.(13)

En definitiva la diabetes autoinmune resulta de una pérdida progresiva de células del islote pancreático, en donde los linfocitos T adquieren fundamental protagonismo. Es una enfermedad tejido-específica, en la cual la autoinmunidad se limita a una serie de moléculas expresadas en las células β pancreáticas. La identificación de esas moléculas, blanco del sistema inmune, proporciona información relevante acerca del mecanismo patogénico y abre el panorama para el desarrollo de futuros agentes terapéuticos.

Utilidad de la determinación de los distintos autoanticuerpos

Los antígenos reconocidos por estos anticuerpos incluyen: ICA (islet cell antibodies), GAD (ácido glutámico descarboxilasa), IA-2 (proteína tirosina fosfatasa), e insulina (IAA). La incorporación de ZnT8A, en combinación con los marcadores clásicos, incrementa la sensibilidad diagnóstica de autoinmunidad de un 84% a un 93%, ratificando que ZnT8A constituye un marcador humoral adicional a la tríada ya existente. Además, a diferencia de lo que ocurre con GAD e IA-2, ZnT8 es un antígeno específico de célula beta por lo que la detección de ZnT8A pone en evidencia un daño específico de dichas células.(14)

Cabe destacar que es de sumo interés la inclusión de la determinación de ZnT8A en pacientes con comienzo dudoso de DM tipo 1 ya que permite disminuir el porcentaje de DM tipo 1B o idiopática. Asimismo, la inclusión de este marcador en individuos de riesgo (familiares en primer grado de pacientes con DM tipo 1) es esencial, en los ensayos terapéuticos de predicción y prevención de la DM tipo 1.(15)

En la actualidad se sabe que alrededor del 90% de los pacientes con diagnóstico reciente de DM1 poseen autoanticuerpos positivos para al menos uno de los cuatro antígenos antes mencionados. A pesar de que existe variabilidad en el patrón de la inmunidad, los anti-IAA son más frecuentes en niños pequeños, en cambio los autoanticuerpos para IA-2 a menudo disminuyen

después del diagnóstico y los anti-GAD tienden a persistir mayormente en el tiempo.(16)

Se ha debatido si la presencia de autoanticuerpos en pacientes adultos define un subtipo de diabetes, que a comienzos de la década de 1990, Tuomi y Zimmet denominaron diabetes autoinmune latente del adulto (LADA, sus siglas en inglés) y que significó el advenimiento de nuevos conceptos fisiopatológicos, clínicos y terapéuticos.

Los resultados de los estudios en general han demostrado que los pacientes diabéticos adultos con autoinmunidad positiva: 1) son más jóvenes que los diabéticos tipo 2 (DM2) con autoanticuerpos negativos; 2) presentan un menor índice de masa corporal; 3) tienen un deterioro más rápido de la masa β celular; 4) mayor presencia de otras enfermedades autoinmunes especialmente hipotiroidismo; 5) más elevada prevalencia de complicaciones microangiopáticas.

El tipo y el título de autoanticuerpos también se vincularían con las características de la enfermedad, ya que la presencia de más de un autoanticuerpo o el alto título de alguno de ellos se asocia a una situación clínica similar a la diabetes tipo 1 (DM1) mientras que la presencia de un sólo anticuerpo y títulos bajos cercanos al punto de corte se relacionan a una situación clínica similar a la DM2.

La interpretación de la autoinmunidad en pacientes diabéticos adultos mayores es compleja y la evolución de la DM luego del diagnóstico puede ayudar a identificar grupos cuya presentación fisiopatológica y clínica es diferente.

Para identificar a pacientes referidos potencialmente como LADA se han propuesto tres criterios diagnósticos: - Edad mayor a 30 años al momento del diagnóstico.

- Positividad para al menos un autoanticuerpo de los encontrados en la DM1 (ICA, GADA, IA-2A, IAA).
- Ausencia de insulino terapia durante al menos los primeros 6 meses desde el debut de la enfermedad.(17)



Analizador Multiparamétrico

Totalmente Automatizado

- Dispositivo individual de un solo uso que contiene todos los reactivos necesarios para realizar el ensayo.
- Capacidad multiparamétrica: Procesa hasta 30 diferentes pruebas por corrida.
- La velocidad permite obtener resultados simultáneos de diferentes paneles.
- El primer resultado se obtiene antes de 90 minutos.
- Volumen de muestra:
 - La muestra se dispensa manualmente. ELISA:
 - Mínimo de muestra 60 uL.
 - Fijación de complemento:
 - Mínimo de muestra 120 uL.



CHORUSTRIO

Enfermedades Infecciosas

ADENOVIRUS IgA
ADENOVIRUS IgG
BORDETELLA PERTUSSIS IgA
BORRELIA IgG
BORRELIA IgM
CHIKUNGUNYA IgG
CHIKUNGUNYA IgM
CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IgA
CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IgG
CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE IgM
CLOSTRIDIUM DIFFICILE A/B TOXINS
CLOSTRIDIUM DIFFICILE GDH
CYTOMEGALOVIRUS IgG
CYTOMEGALOVIRUS IgG AVIDITY
CYTOMEGALOVIRUS IgM
DENGUE IgG
DENGUE IgM
DIPHTERIA IgG
ECHINOCOCCUS IgG
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgG
EPSTEIN-BARR EARLY ANTIGEN IgM
EPSTEIN-BARR EBNA IgG
EPSTEIN-BARR VCA IgG
EPSTEIN-BARR VCA IgM II
HELICOBACTER PYLORI IgA

HELICOBACTER PYLORI IgG
HSV1 SCREEN
HSV2 SCREEN
HERPES SIMPLEX 1 IgG Recombinant
HERPES SIMPLEX 1+2 IgM
HERPES SIMPLEX 2 IgG Recombinant
INFLUENZA A IgA
INFLUENZA A IgG
INFLUENZA B IgA
INFLUENZA B IgG
LEGIONELLA PNEUMOPHILA
LEGIONELLA PNEUMOPHILA 1 IgG
LEGIONELLA PNEUMOPHILA 1-6 IgG
LEGIONELLA PNEUMOPHILA IgM
LEGIONELLA URINARY ANTIGEN
MEASLES IgG
MEASLES IgM
MUMPS IgG
MUMPS IgM
MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgA
MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgG
MYCOPLASMA PNEUMONIAE IgM
Parvovirus B19 IgG
Parvovirus B19 IgM
POLIOVIRUS IgG

RESPIRATORY SYNCYTIAL IgA
RESPIRATORY SYNCYTIAL IgG
RUBELLA IgG AVIDITY
RUBELLA IgG
RUBELLA IgM
SYPHILIS SCREEN RECOMBINANT
TETANUS IgG
TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS
TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS IgM
TIROGLOBULIN HIGH SENSITIVITY
TOSCANA VIRUS IgG
TOSCANA VIRUS IgM
TOXOCARA IgG
TOXOPLASMA IgA
TOXOPLASMA IgG AVIDITY
TOXOPLASMA IgG
TOXOPLASMA IgM
TRACHOMATIS IgA
TRACHOMATIS IgG
TREPONEMA IgG
TREPONEMA IgM
VARICELLA IgG
VARICELLA IgM
25 OH VITAMIN D TOTAL

Autoinmunidad

ANA-8
ANA-SCREEN
ENA-6 S
SM
SS-A
SS-B
Sci-70
Cenp-B
Jo-1
ds-DNA-G
ds-DNA-M
snRNP-C
U1-70 RNP
anti-CCP
RF-G
RF-M
CALPROTECTIN
CALPROTECTIN K
CARDIOLIPIN-G
CARDIOLIPIN-M
BETA 2-GLYCOPROTEIN-G
BETA 2-GLYCOPROTEIN-M
DEAMIDATED GLIADIN-A
DEAMIDATED GLIADIN-G
GLIADIN-A

GLIADIN-G
tTG-A
tTG-G
ASCA-A
ASCA-G
GBM
MPO
PR3
TG
a-TG
a-TPO
AMA-M2
LKM-1
INSULIN
INTRINSIC FACTOR
FSH
LH
PRL
TSH
fT4
fT3
TOTAL IgE

Fijación del Complemento

BORRELIA IgG
BRUCELLA
COXACKIE VIRUS A MIX
COXACKIE VIRUS B MIX
ECHO VIRUS N MIX
ECHO VIRUS P MIX
LEPTOSPIRA MIX
LISTERIA MONOCYTOGENES
PARAINFLUENZA MIX
Q FEVER



BIODIAGNOSTICO

Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" | C1107APB | CABA | Argentina | Tel./Fax: +5411 4300-9090

info@biodiagnostico.com.ar | www.biodiagnostico.com.ar

>>> CONCLUSIÓN

Todos los estudios demuestran que la determinación de este autoanticuerpo mejora la predicción de la enfermedad, proporcionando evidencia de autoinmunidad y estableciendo una medida más sensible de este fenómeno cuando se combina con otros autoanticuerpos como anti-GAD y anti-IA-2.

>>> BIBLIOGRAFÍA

- 1- Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:17040-5.
- 2- Wenzlau JM, Hutton JC, Davidson HW. New antigenic targets in type 1 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008;15:315-20.
- 3- Chimienti F, Devergnas S, Pattou F, Schuit F, García-Cuenca R, Vandewalle B, et al. In vivo expression of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *J Cell Sci*. 2006;119:4199-206.
- 4- Chimienti F, Devergnas S, Favier A, Seve M. Identification and cloning of a beta-cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. *Diabetes*. 2004;53:2330-7.
- 5- Endocrinology: Adult and pediatric (Seventh Edition) Chapter 31-Biosynthesis, processing and Secretion of the Islet Hormones: Insulin, Islet Amyloid Polypeptide (Amylin), Glucagon, Somatostatin, and Pancreatic Polypeptide. (2016). Obtenido de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323189071000317>
- 6- Lu M, Fu D. Structure of the zinc transporter YiiP. *Science*. 2007;317:1746-8.
- 7- Figueredo, C P; Poskus, E; Sociedad Argentina de Diabetes; Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes; 45; 2; 7-2011; 108-117
- 8- Long AE, Gooneratne T, Rokni S, Williams AJ, Bingley PJ. The Role of autoantibodies

to Zinc Transporter 8 in Prediction of Type 1 Diabetes in Relatives: Lessons from the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT) Cohort. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97: 632-637.

- 9- Wenzlau, Janet. Zinc transporter 8 (ZnT8) autoantibodies [internet]. 2016 Apr 4; Diapedia 2105812817 rev. no. 9.
- 10- Palmer JP, Hirsch IB. What's in a name: Latent autoimmune diabetes of adults, type 1.5, adult-onset, and type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26:536-8.
- 11- Zimmet PZ, Elliott RB, Mackay IR, Tuomi T, Rowley MJ, Pilcher CC, et al. Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and insulin in islet cell antibody positive presymptomatic type 1 diabetes mellitus: Frequency and segregation by age and gender. *Diabet Med*. 1994;11:866-71.
- 12- Report of a WHO Study Group. Diabetes mellitus. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1985;727:1-113.
- 13- Van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev*. 2011; 91: 79-118.
- 14- Faccinetti NI, Rovitto BD, Guerra LL, Sabljic AV, Iacono RF, Trifone L, Poskus E, Trabucchi A, Valdez SN. Detección y caracterización de autoanticuerpos anti-ZnT8 en pacientes argentinos con diabetes mellitus tipo 1 - *Rev Argent Endocrinol Metab*. 2016;53(3):77-83
- 15- Taplin CE, Barker JM. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity*. 2008;41: 11-18.
- 16- Zhang L, Eisenbarth GS. Prediction and prevention of type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes*. 2011;3: 48-57.
- 17- Palmer JP, Hampe CS, distinct from type I diabetes or just type I diabetes at an older age? *Diabetes*, 2005;54 (S2): S62-7.
- 18- Salas PF, Codner DE, Ávila AA, Carrasco PE, Pérez BF. Frecuencia de anticuerpos anti-ZnT8 en diabéticos tipo 1. *Rev. chil. endocrinol. Diabetes*. 2012; 5 (3)
- 19- Ridner E, Yohana S, Tornelli FA, Muller C, Díaz S, Lovecchio S, Faccinetti NI, Penas Steinhard A, Valdez S, Guerra L, Frechtel G. Autoinmunidad contra la célula Beta en el Adulto mayor con Diabetes Tipo 2: Impacto Clínico, Metabólico y Terapéutico. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes Vol. 49 N° 1 Marzo de 2015: 05-12 ISSN 0325-5247*
- 20- Lampasona V, Petrone A, Tiberti C, Capizzi M, Spoletini M, di Pietro S, et al. Zinc transporter 8 antibodies complement GAD and IA-2 antibodies in the identification and characterization of adult-onset autoimmune diabetes: Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) 4. *Non Insulin Requiring Autoimmune Diabetes (NIRAD) Study Group. Diabetes Care*. 2010;33: 104-108.
- 21- Dang M, Rockell J, Wagner R, Wenzlau JM, Yu L, Hutton JC, et al. Human type 1 diabetes is associated with T cell autoimmunity to zinc transporter 8. *J Immunol*. 2011; 186: 6056-6063.



PORQUE
PENSAMOS EN NUESTROS CLIENTES

12 CUOTAS SIN INTERÉS EN PESOS
SOLO CLIENTES DIRECTOS DE FÁBRICA
INSTALACIÓN Y CAPACITACIÓN DENTRO DE LOS 200KM SIN CARGO

μGASES

Analizador de pH y Gases
en Sangre

pH pCO₂ pO₂

BAJO CONSUMO DE REACTIVOS

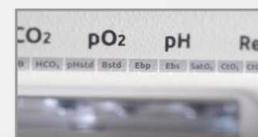
**INGRESO DE MUESTRA POR
ASPIRACIÓN DE TUBO O JERINGA,
INYECCIÓN Y MICROMÉTODO.**

**ELECTRODOS Y REACTIVOS
INDIVIDUALES**

FÁCIL MANTENIMIENTO

**DATOS DE ALMACENAMIENTO
ILIMITADOS**

DISPLAY INTERACTIVO DE 10 "



SERVICIO TÉCNICO ESPECIALIZADO



www.aadee.com info@aadee.com.ar [company/aadee-s.a.](https://www.facebook.com/aadee.s.a)

Av. Triunvirato 4135 5° piso - C1431FBD - Buenos Aires - Argentina (54-11) 4523-4848 (Rot.) (54-11) 4523-2291





Aspectos bioquímicos y factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino

>>> El cáncer de cuello uterino se encuentra dentro de las principales causas de muerte en la mujer. Se ha demostrado, que el principal factor de riesgo es la infección por el virus del papiloma humano. La lenta evolución de la enfermedad, la accesibilidad del cérvix para su estudio y conocer los aspectos bioquímicos en su génesis podría contribuir a la búsqueda de métodos de detección y tratamiento más eficaces.

>>> AUTORES

Janet Villafuerte Reinante (1) Yoel Hernández Guerra (1) Zuria Elisa Ayala Reina (1) Laura Naranjo Hernández (1) José Ángel González Alonso (1) Mirialys Brito Méndez(1)

Universidad de Ciencias Médicas de Cienfuegos, Cuba, CP: 55100

Cómo citar este artículo:

Villafuerte-Reinante J, Hernández-Guerra Y, Ayala-Reina Z, Naranjo-Hernández L, González-Alonso J, Brito-Méndez M. Aspectos bioquímicos y factores de riesgo asociados con el cáncer cervicouterino.

Revista: Finlay [revista en Internet]. 2019 [citado 2019 Nov 21]; 9(2): [aprox. 8 p.].

Disponible en: <http://www.revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/635>

>>> CORRESPONDENCIA:

Janet Villafuerte Reinante. Universidad Ciencias Medicas. enfuegos.janetvr@jagua.cfg.sld.cu

>>> RESUMEN

El cáncer de cuello uterino se encuentra dentro de las principales causas de muerte en la mujer, por lo que representa un serio problema de salud. Se ha demostrado, mediante estudio epidemiológico que su principal factor de riesgo es la infección por el virus del papiloma humano.

Existen otros factores del propio huésped que lo predisponen al desarrollo del cáncer de cérvix. La lenta evolución de la enfermedad y la accesibilidad del cérvix para su estudio, permiten tener tiempo y herramientas para detectar y

Na⁺K⁺Cl⁻Ca⁺⁺Li⁺

pH

Diestro

LLEVANDO TECNOLOGÍA DESDE ARGENTINA AL MUNDO

AMÉRICA

| EUROPA

| ÁFRICA

| ASIA

- Fácil de operar
- Libre de mantenimiento
- Bajo costo por determinación
- Se adapta a las necesidades de su laboratorio



LA ELECCIÓN DE HOY QUE LO ACOMPAÑARÁ EN EL FUTURO

Comuníquese con nosotros:

+54 11 4709 7707

| info@diestroweb.com

| www.diestroweb.com



erradicar la enfermedad. Conocer los aspectos bioquímicos en su génesis podría contribuir a la búsqueda de métodos de detección y tratamiento más eficaces en las lesiones malignas de cuello uterino. Se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de describir un panorama general sobre los aspectos bioquímicos y los factores de riesgo asociados con este tipo de cáncer. Fueron consultadas las bases de datos científicas: Pubmed, Biomed Central, Medline, Scielo y Google Académico.

Palabras clave: cáncer de cuello uterino, virus del papiloma humano, causas de muerte, mujer.

>>> INTRODUCCIÓN

El cáncer de cérvix es una alteración celular que se origina en el epitelio del cuello del útero y se manifiesta inicialmente a través de lesiones precursoras, de lenta y progresiva evolución, que suceden en etapas de displasia leve, moderada y severa, que evolucionan a cáncer, in situ, en grado variable cuando esta se circunscribe a la lesión epitelial y luego a cáncer invasor cuando el compromiso traspasa a la membrana basal(1).

El cáncer representa un gran reto para la sociedad contemporánea; el de cuello uterino constituye la segunda causa de muerte en la mujer a nivel mundial. Es una enfermedad que ha provocado gran impacto en todas las esferas sociales ha contribuido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad en el mundo entero. La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que cada año se diagnostican 500 000 nuevos casos de cáncer cervicouterino (CCU) y mueren más de 550 000 mujeres, y que de estas, el 80% proceden de países subdesarrollados(2-4).

Se conoce que previo a la aparición del cáncer, existe un período de algunos años en que se producen cambios celulares que llevan a la aparición de displasias epiteliales, que de ser detectadas y tratadas a tiempo, evitarían lamentar lesiones de mayor gravedad(5).

Las neoplasias malignas de aparato reproductor se incluyen dentro de las 10 primeras causas de cáncer en la mujer. Las neoplasias de cérvix

constituyen el 21,4 % del total de las neoplasias malignas y el 85 % entre las ginecológicas. En los países latinoamericanos, más de 30 000 mujeres mueren anualmente por cáncer de cérvix. Los registros de cáncer obtenidos por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) muestran que hay una incidencia relativamente alta en Brasil, Paraguay y Perú; tasas inferiores muestran Cuba y Puerto Rico, no así Canadá, que a escala mundial presenta la tasa de mortalidad más baja por esta enfermedad(3,6,7).

En Cuba, el cáncer ocupa el segundo lugar entre las diez primeras causas de muerte, solo precedido por las enfermedades cardiovasculares, y es la primera causa de años de vida potenciales perdidos (AVPP) en el país. Las provincias de Pinar del Río, Artemisa, Sancti Spíritus, Ciego de Ávila, Camagüey, Holguín, Las Tunas y la Isla de la Juventud, son territorios donde esa enfermedad se ha convertido en la primera causa de muerte. En el país, el cáncer de cuello ocupa el quinto lugar en incidencia entre las enfermedades malignas que afectan a las mujeres, con una tasa de 9,4 por cada 100 000 habitantes(1, 2,8).

Se ha observado con el transcurso de los años que el número de pacientes con CCU ha tenido una visible tendencia al aumento; en el año 1985 se reportaron solo 780 casos, para el año 1990 ascendió este número a 1 123, 1 386 en el año 2000, hasta 1 645 en el 2009 y para el año 2015 llegaron a 1 461 casos registrados, en los últimos dos años ha disminuido la incidencia discretamente en 1 060 y 1 024, en 2017 y 2018 respectivamente(8,9).

En la provincia Cienfuegos del total de mujeres examinadas en el Programa de Detección Precoz del Cáncer Cervicouterino, se diagnosticaron 73 casos en el 2012 y 15 casos en 2013, además fallecen por esta causa 15 mujeres para una tasa de 7,6 por 100 000 habitantes del sexo femenino. No se han publicado datos más recientes en la provincia.(10)

Los autores de este trabajo consideran que los aspectos bioquímicos y moleculares de los factores de riesgos constituyen un elemento esencial para lograr mayor entendimiento de la enfermedad, para contrarrestar las estadísticas letales

de esta patología.

Por ello, el fin de esta investigación es realizar una revisión bibliográfica que permita describir un panorama general de los conocimientos actuales sobre las bases bioquímicas y los factores de riesgo de padecer cáncer cervicouterino.

>>> DESARROLLO

El cáncer se inicia cuando una célula escapa a los controles de división y muerte celular y comienza a proliferar descontroladamente. Todas las células de un organismo multicelular complejo están sometidas a un riguroso control que abarca tanto su potencial de proliferación y diferenciación, como la muerte celular por senescencia o apoptosis. El triángulo que se establece entre los índices de proliferación, diferenciación y apoptosis

constituye la base sobre la cual se asienta la homeostasia de órganos y tejidos (11)

La proliferación y diferenciación celular son esenciales para la formación, reparación y mantenimiento de la adecuada funcionalidad de todos los tejidos y órganos en el organismo.

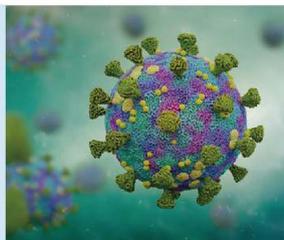
Cuando un tejido en desarrollo alcanza cierto tamaño y organización, sus células dejan progresivamente de proliferar y se diferencian. El retorno al estado proliferativo se produce cuando el tejido debe regenerarse pero al diferenciarse, ciertas células pierden irreversiblemente, por tanto, la capacidad de división. Desequilibrios de este control conducen a trastornos de proliferación y junto a ciertas mutaciones convierten genes reguladores de proliferación y diferenciación en oncogenes desencadenantes de cáncer (11).



Ensayo de PCR en tiempo real con marca CE-IVD destinado a la detección de COVID-19. Proporciona resultados confiables y de alta calidad, a partir de muestras de hisopado orofaríngeo y nasofaríngeo.

PerkinElmer® SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent Kit se encuentra autorizado por ANMAT como reactivo de diagnóstico de uso in vitro para detección de COVID-19, en el marco de la emergencia sanitaria.

PerkinElmer® SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent Kit



Específico: detección de genes SARS-CoV-2 ORF1ab y N.

Sensible: límite de detección de 1 copia/uL o 20 copias/ volumen de reacción para cada diana viral (ORF 1ab y N)

Flexible: compatible con muestras obtenidas mediante hisopado orofaríngeo y nasofaríngeo.

Fiable: rendimiento verificado con estudios de casos del punto de origen del brote.

No muestra reactividad cruzada con patógenos comunes del tracto respiratorio y patógenos del torrente sanguíneo. Incluye controles internos positivo y negativo para evitar el reporte de resultado incorrectos. *Origen y procedencia: Finlandia.*



+54 11 4639 3488
ventas.etc@etcint.com.ar
etcventa@etcint.com.ar

Allende 3274
(C1417BMV) Ciudad Autónoma de Buenos Aires
República Argentina

Contáctenos por mayor información

www.etcint.com.ar

El cáncer es una enfermedad caracterizada por el crecimiento anormal y diseminado de células, que al desarrollarse en forma incontrolada, avanzan entre los tejidos normales y los destruyen, alterándose así el funcionamiento del organismo. Se inicia casi siempre como una enfermedad localizada.

El carcinoma del cuello uterino es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la mujer. Se reconocen dos tipos histológicos: el epidermoide o de células escamosas y el adenocarcinoma. El primero se origina en el epitelio plano estratificado que recubre el ectocérvix y el segundo en el epitelio cilíndrico que tapiza el canal endocervical. (3)

El desarrollo del cáncer cervical, generalmente, es muy lento y comienza como una afección precancerosa llamada displasia, que se puede detectar por medio de un citodiagnóstico vaginal y es 100 % tratable; por esta razón, es tan importante que las mujeres se practiquen este estudio regularmente. La posibilidad de detectar forma temprana esta neoplasia hace factible reducir la mortalidad secundaria al padecimiento. Un trabajo preventivo es fundamental para su diagnóstico oportuno y tratamiento apropiado. (3,12)

Las células cancerosas se distinguen de las normales por presentar una multiplicación incontrolada, a una velocidad mayor de lo habitual, que no responden a los mecanismos que controlan la multiplicación celular en el organismo. Tiene un comportamiento invasivo que no respeta los límites de los órganos, con un metabolismo muy acelerado, alto consumo de energía, que obtiene por vía anaerobia, se afecta el tamaño y forma de la célula. Presentan además modificaciones en los mecanismos de reconocimiento intercelular. (13)

La irrupción del virus del papiloma humano (HPV) como "factor necesario" para la génesis del cáncer cervical a partir de lesiones preinvasoras, presente en el 99,7 %, motivó un cambio en la concepción global de la enfermedad. Las constantes investigaciones desplazaron la mirada futura de la problemática desde una visión morfológica hacia una concepción molecular en pleno avance

(14)

Se ha asumido que otros factores actúan en conjunto con el VPH, influenciando el riesgo de transición de la infección VPH cervical a malignidad. Estos factores son: comenzar las relaciones sexuales a una edad temprana, el embarazo precoz y la multiparidad, tener parejas sexuales múltiples o contacto sexual con alguien que ha tenido parejas sexuales múltiples; el empleo de anticonceptivos orales por largos periodos, contraer el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), que debilita el sistema inmunológico de la mujer y la hace más vulnerable a la infección por el PVH. (7,12)

Se han señalado además entre otros factores predisponentes, poseer antecedentes familiares de primera línea de cáncer cervicouterino, el hábito de fumar y el bajo estado socioeconómico; las tasas de mortalidad e incidencia son más elevadas entre mujeres pobres, ya que ellas no tienen acceso a los servicios de diagnóstico y tratamiento (7,15-17)

Aspectos bioquímicos relacionados con la aparición del cáncer cervicouterino

Los componentes celulares guardan un equilibrio desde el nacimiento de la célula pasando por su etapa de alta actividad metabólica hasta su muerte, una única mutación no es suficiente para transformar una célula sana en cancerosa, deben confluír varias mutaciones poco frecuentes. La morfología nuclear es un dato importante en el que se basan los anatomopatólogos para diagnosticar un cáncer y se correlaciona con la desestabilización de los cariotipos en las células cancerosas cuando se cultivan. Estos cariotipos inestables muestran genes que se amplifican o seleccionan y cromosomas que son altamente susceptibles a la pérdida, duplicación o translocación (18)

El cáncer de cuello uterino aparece en la zona de transición epitelial, la cual consta de células troncales (células madre) desde donde se originan la mayor parte de los cánceres. De manera que algunas células madre sufren la transformación y se convierten en displasia o adenoma producto de la infección por VPH, luego otras alteraciones genéticas condicionan que la expresión del

Dengue - Zika Chikungunya

Dengue

BIO-RAD

- **Platelia Dengue NS1Ag**
Elisa x 96 tests
- **Dengue NS1Ag strip**
Inmunicromatografía
Test Rápido x 25 tests

MP
MP Biomedicals

- **MultiSure Dengue IgG, IgA,
IgM y NS1Ag**
Inmunicromatografía
Test Rápido x 20 tests

NOVATEC
IMMUNDIAGNOSTICA GMBH

- **Dengue IgG**
Elisa x 96 tests
- **Dengue IgM**
Elisa x 96 tests
- **Dengue IgM captura**
Elisa x 96 tests

Zika

NOVATEC
IMMUNDIAGNOSTICA GMBH

- **Zika IgM Captura**
Elisa x 96 tests

CHEMBIO
DIAGNOSTIC SYSTEMS, INC.

- **DPP Zika IgM/IgG**
Inmunicromatografía
Test Rápido x 25 tests

NOVATEC
IMMUNDIAGNOSTICA GMBH

- **Chikungunya IgG**
Elisa x 96 tests
- **Chikungunya IgM Captura**
Elisa x 96 tests



BIODIAGNOSTICO

Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "1" | C1107APB | CABA | Argentina | Tel./Fax: +5411 4300-9090
info@biodiagnostico.com.ar | www.biodiagnostico.com.ar

genoma viral (si se integran o no E6 y E7 en forma permanente) origine el carcinoma, *in situ*, y otros cambios genéticos permitirán que la célula destruya la lámina basal entre al estroma en lo que se conoce como transición epitelio-mesénquima.

Debido a que los dos genes participan de manera importante en el control del ciclo celular, estos eventos favorecen el crecimiento descontrolado de las células como la transición maligna en el cáncer cervicouterino. Después de los cambios previos se inicia el proceso de extravasación (atravesar vasos linfáticos o sanguíneos) por donde las células se diseminarán para dar origen a las metástasis. (19)

Dentro de los aspectos bioquímicos en la génesis del cáncer tienen un papel decisivo los genes supresores de tumores y oncogenes, debido a su efecto regulador del ciclo celular. Un ejemplo de ellos ocurre en las mutaciones en los genes BCRA1 y BCRA2 que incrementan el riesgo de cáncer de mama entre el 60 y el 80% y para el cáncer de ovario entre el 10 y el 40% respectivamente (20).

Existen otros oncogenes que se relacionan con la aparición de tumores, tal es el caso de gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), este es el primer receptor transmembranal de tirosina quinasa que se vincula directamente con el cáncer en seres humanos.

A pesar de estudiarse el efecto de estos genes en el ciclo celular, no existían claras evidencias de su papel en el metabolismo de la célula tumoral. Los cambios metabólicos se veían como una simple respuesta a las necesidades energéticas de las células en proliferación, desestimando el papel de los oncogenes y proto-oncogenes en la reprogramación metabólica. En la actualidad existen evidencias que sustentan el concepto de que la reprogramación metabólica en el cáncer se debe, primariamente a mutaciones de supresores de tumores y proto-oncogenes. (20)

El metabolismo proliferativo es altamente dependiente del reprogramado de la mitocondria para servir como organelo biosintético en lugar de cumplir con su papel degradativo y es imprescindible para la carcinogénesis. (21)

Una idea relacionada con el papel de los proto-oncogenes y genes supresores de tumor en el metabolismo, es la posibilidad de que estos surgieron en la evolución como componentes de los mecanismos de regulación metabólica. Consistente con esta hipótesis, la activación del p53 como gen supresor de tumor, es crítica para la supervivencia de la célula y el balance entre glucólisis y respiración aeróbica. En tumores, la pérdida de p53 puede incrementar la síntesis anabólica a partir de intermediarios de la vía glucolítica, siendo crítico en el reprogramado metabólico de células cancerosas. El tratamiento con la droga antidiabética metformina, un supresor de complejo 1 de la cadena de transporte del electrón en la mitocondria, es especialmente tóxico para células tumorales con pérdida de p53 (20).

Las mutaciones en proto-oncogenes pueden ser criterios para la selección de poblaciones con tumores sujetos a estrés metabólico. Los clones de células con expresión de HIF1- α mostraron aumento de la actividad del transportador de glucosa, y aumento de la glucólisis y la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa. El aumento de la glucólisis es mediado por Ras y no por defectos en la mitocondria.

El papel del Ras en la tumorigénesis y en la reprogramación del metabolismo mitocondrial escomprobada, *in vivo*. La expresión de isoformas de enzimas que garantizan el metabolismo anabólico en células tumorales, pueden ser consecuencia de oncogenes y genes supresores (22)

Los oncogenes ligados al Ras inducen la expresión de isoformas de enzimas que sustentan las alteraciones metabólicas en las células tumorales. Tal es el caso de la isoforma M2 de la piruvato kinasa (PKM2) la cual tiene menor actividad que la isoformas M1 expresada en las células diferenciadas. Esta enzima cataliza la conversión del fosfoenolpirúvico en piruvato. La isoforma M2 provoca una acumulación de los metabolitos corriente arriba en la ruta metabólica, que pueden ser derivados a otros procesos biosintéticos (20)

La activación de rutas de señales vinculadas a oncogenes contribuye al reprogramado

metabólico. La activación de las vías de transducción de señales del PI3K/AKT es quizás la alteración más común en cánceres humanos espontáneos. Cuando se activa PI3K/AKT se eleva la tasa de utilización de la glucosa y se activa la vía glucolítica. Este efecto está justificado por el aumento en la expresión del transportador de glucosa, la activación además de la glucólisis a través de la sobreexpresión de la hexoquinasa, con lo que aumenta la capacidad de convertir la glucosa en glucosa 6 fosfatos y de esta manera queda atrapada en el interior celular.

Adicionalmente la señalización de AKT induce la expresión de fosfofructoquinasa II en lugar de la fosfofructoquinasa I, lo cual induce un aumento de la vía glucolítica (20).

Con el desarrollo de herramientas moleculares se ha logrado una mejor comprensión de

las bases moleculares del cáncer. En general se presenta por la producción de defectos en genes específicos, que llevan a una proliferación celular incontrolada. Las alteraciones genéticas que juegan un papel importante son las involucradas en ganancia y pérdida de función de proteínas que regulan el ciclo de proliferación celular (23).

Los autores coinciden con lo descrito por Cardellá donde deja claro que, la transformación de la primera célula a otra anormal, es el evento desencadenante del resto de la historia natural del cáncer. Esta célula anormal al multiplicarse mantiene su naturaleza anormal en su descendencia. (13)

La integridad de la molécula de ADN es la principal señal reguladora de la progresión del ciclo celular. El conocimiento del ciclo celular tiene importancia en la práctica médica por su vinculación



GLYMS
Información en tiempo real

Software para laboratorios

- ▶ Ingreso de Ordenes para Clínica, Veterinaria y Bromatología
- ▶ Autorizaciones Automáticas con FABA y Obras Sociales
- ▶ Informes en PDF, Email y WEB 100% configurables
- ▶ Seroteca, Turnos, Mensajes SMS, Talones QR
- ▶ Interfaces con todos los autoanalizadores del mercado
- ▶ Gestión de cambios
- ▶ Turnero por totem y pantalla
- ▶ Página web de resultados

Tel.:(11) 4331-4512 email: administracion@glyms.com

Algunos de nuestros clientes y amigos:

Rapela Laboratorios (Caba)
Sanatorio Finochietto (Caba)
Fares Taie (Mar del Plata)
Laboratorio Dra Ibañez (Salta)
Clinica Raña (Neuquén)
Hospital Scaravelli (Mendoza)
Lab. Perez Navas (San Juan)
Laboratorio LES (Bariloche)
Clínica San Agustín (Neuquén)
Milani Laboratorio (Junín)
Instituto Rossi (Buenos Aires)
LEA (Villa la Angostura)
LAC (Neuquén)
LER (Caba)

**20
AÑOS**

Creciendo juntos!

www.glyms.com

con la génesis del cáncer.(24)

Las nuevas mutaciones en las células iniciadas y promovidas conducen a que proliferen de modo autónomo, sin la necesidad del concurso de agentes promotores, luego pasa a la fase decrecimiento incontrolado. La capacidad de invasión de un tumor está vinculada a cambios adicionales en el comportamiento celular. Se ha comprobado que los tumores cancerosos suelen producir factores angiogénicos, como el factor básico de crecimiento de fibroblastos, los cuales a su vez, estimulan el desarrollo de los vasos sanguíneos que nutren la masa tumoral.

Adicionalmente las células cancerosas producen colagenasa y otras proteasas que degradan las membranas basales, lo cual posibilita la invasión a los tejidos. Los cambios inmunológicos posibilitan que las células cancerosas del tumor original y de la metástasis escapen a la vigilancia del sistema inmunológico (13).

Mecanismo oncogénicos del virus papiloma humano (VPH)

El papiloma humano es un virus ADN de aproximadamente 8,000 pares de bases. El mapa genómico del VPH tipo 16 (el más relevante en su potencial oncogénico) se destaca por tener una región temprana (E), una región tardía (L), en dependencia del momento en que se expresan durante el ciclo de vida viral, una región de control largo (LCR) y 8 regiones de lectura abierta (ORF). El gen L1 de la región tardía, codifica proteínas estructurales de la cápside similares en todos los tipos de VPH. Los genes E6 y E7 de la región temprana codifican proteínas importantes para la transformación neoplásica de la célula epitelial humana infectada.(25)

El origen del cáncer cervicouterino se relaciona con la infección del virus del papiloma humano de alto riesgo (tipos 16 y 18). Una vez que logra penetrar a la célula huésped inicia la expresión de sus genes. Las moléculas críticas en la replicación viral son E6 y E7 (oncogenes virales), las cuales inactivan funcionalmente los productos de dos genes supresores de tumores muy importantes, el gen p53 y Rb, respectivamente. Ambos

oncogenes inducen la proliferación, inmortalización y transformación maligna de las(26)células infectadas.

Detección de la proteína E6.

Las proteínas E6 y E7 actúan como marcadores proteicos de este proceso, los cuales pueden ser detectados por medio de anticuerpos fluorescentes mientras están unidas a sus respectivas proteínas.

Transformación maligna por VPH.

La esencia del proceso oncogénico, desde el punto de vista molecular, es que las proteínas E6 y E7 se logran unir a dos proteínas supresoras de tumor del organismo humano. La proteína E6 se une a la proteína p53 que es una proteína celular supresora de tumores, induciendo el desarrollo tumoral y la destruye, y la E7 se une a p105Rb, proteína del retinoblastoma y supresora de tumores, y la neutraliza e impide que ejerza su efecto, alterando adicionalmente el control del ciclo celular normal.(19)

El evento crucial en el proceso oncogénico ocurre cuando el genoma viral se integra al genoma del huésped. En este proceso de integración se produce una alteración del gen E2 que a su vez modula los dos genes virales asociados a carcinogénesis: el E6 y E7, los cuales se expresarían en forma desregulada (25).

Las proteínas E6 y E7 se expresan continuamente en los cánceres asociados a VPH, y poseen gran capacidad de promover la inestabilidad genética a través de la inducción de la proliferación celular, disrupción del control del ciclo normal e inhibición de la apoptosis (25)

Normalmente la proteína p53 activada es requerida para detener el ciclo celular en la fase G1 como resultado de la estimulación directa a p21cip1. Una ausencia o inhibición de esta propiedad conduce a inestabilidad genómica. Alternativamente, cuando los daños en el ADN son más severos o cuando hay una gran replicación viral, p53 puede activar la vía apoptótica (27).



Dificultades globales, soluciones reales



Ensayos PCR, Anticuerpos ELISA y CLIA, Antígenos FIA.
Hisopos, Medios de Transporte y Controles Moleculares.
Extracción Automatizada de Ácidos Nucleicos
para Diagnóstico de
COVID-19

Anatolia
geneworks



SENTINEL
DIAGNOSTICS

vircell
MICROBIOLOGISTS

Estomba 961 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires Argentina -Tel:+5411 4555 4601
Mail: pl@bioars.com.ar - Web: www.bioars.com.ar



La génesis del cáncer cervicouterino y el papel de los protooncogenes, tienen acción antagónica sobre la proteína p53, de manera tal que impiden la reparación del DNA y contribuyen a la aparición de los oncogenes. Las células que contienen al virus integrado, adquieren ventajas de crecimiento sobre las que contienen episomas virales, lo cual provoca la expansión clonal de estas células. Estas células tienen inestabilidad genómica lo que conduce a la progresión de la malignización.(28)

Este virus no produce viremia, por lo que pasa inadvertido por el sistema inmune. Además, al igual que todos los ADN virus, tiene mecanismos para inhibir la síntesis de interferón por la célula huésped. Estas estrategias virales generan infecciones crónicas por largos periodos de tiempo sin que el huésped se entere (26)

Más de 100 genotipos de este virus han sido descritos hasta la fecha y se han identificado aproximadamente 40 tipos de VPH que pueden infectar la mucosa genital. De estos, solo 15 poseen potencial oncogénico, constituyéndose en un cofactor necesario para el desarrollo de lesiones neoplásicas intraepiteliales (NIE) pre-cancerosas y cáncer de cuello uterino (25).

Si junto con los datos anteriores, se estudia la epidemiología de las infecciones por VPH, es posible observar algunas condiciones particulares. Se aprecia entonces que en mujeres sanas menores de 20 años las infecciones genitales por VPH son extraordinariamente frecuentes en una proporción del 25 a 30 %, las cuales se resolverán en un periodo de seis meses; en aquellas mujeres entre 20 a 24 años, las infecciones disminuyen a alrededor de 18 %; entre los 25 a 49 años disminuyen aún más, pero nunca hasta el valor nulo. No obstante, a partir de los 50 años, vuelven a aumentar las infecciones, lo que coincide con la menopausia y con los cambios hormonales, cuya explicación reside en que los VPH tienen dentro de su genoma una secuencia que no codifica para proteínas virales, pero sí es una secuencia blanco para receptores de estrógeno, por lo tanto, el estrógeno condiciona la infección viral y, sumado al rol que tiene la inmunidad en el tracto genital, aparece una reactivación de infecciones en el periodo de la post

menopausia (19)

Se considera que las fumadoras tienen doble riesgo de lesión intraepitelial con respecto a las no fumadoras. Experimentalmente se ha demostrado la presencia de nicotina, cotinina y otros mutágenos derivados del tabaco, en mujeres fumadoras con lesión intraepitelial. Además, es bien conocido el daño molecular del ácido desoxirribonucleico (ADN) del tejido cervicouterino en mujeres que fuman. El tabaco induce un efecto inmunosupresor local. Diferentes estudios sugieren un efecto carcinogénico directo, aunque no es posible separar el hecho de las conductas de riesgo para adquirir VPH que se asumen con más frecuencia entre las mujeres fumadoras. Otro mecanismo atribuido a este factor es la inducción indirecta de inmunosupresión y la reducción de antioxidantes provenientes de la dieta (29,30)

Mujeres portadoras del ADN del VPH, con 7 o más embarazos a término, tienen un riesgo de padecer la enfermedad de 4 veces más que mujeres nulíparas o con menor número de hijos. La puerta de entrada del VPH es el epitelio erosionado, lo cual es muy frecuente tras los partos. Sin embargo, solo en aquellas mujeres con menos de 16 años, donde el epitelio está en fase de transición este es más susceptible a las lesiones. En los embarazos a término y partos naturales la probabilidad de traumas en la zona de transición en el cuello uterino no es frecuente, por lo que la influencia de este factor es cuestionable (27).

Ha sido reportado que el uso de anticonceptivos orales por más de 5 años es un cofactor que incrementa 4 veces el riesgo de padecer cáncer de cérvix en mujeres portadoras de VPH. Otro hallazgo de las investigaciones epidemiológicas expone que tras un diagnóstico de displasia, en aquellas mujeres que consumen anticonceptivos orales, la progresión a carcinoma, *in situ*, es más rápida. Existen varios mecanismos por los cuales las hormonas sexuales (estrógeno y progesterona) pueden catalogarse como factores que favorecen los efectos celulares de la persistente infección por el VPH. Estas hormonas inhiben la transactivación transcripcional mediada por p53 de genes involucrados en el arresto del ciclo celular y la apoptosis.(30)

>>> CONCLUSIONES

La infección por VPH es un factor de riesgo para padecer cáncer de cérvix. Varios estudios epidemiológicos han resaltado su importancia en la biología molecular e historia natural del cáncer de cuello uterino. Se ha demostrado que un porcentaje de mujeres infectadas con VPH oncogénicos no desarrollan lesiones cervicales asociadas con cáncer, lo cual indica que existen factores del propio huésped que lo predisponen o lo protegen al desarrollo del cáncer de cérvix.

Conflicto de intereses: los autores declaran la no existencia de conflictos de intereses relacionados con el estudio.

Contribución de los autores:

Idea conceptual: Janet Villafuerte Reinante.

Análisis estadístico: Janet Villafuerte Reinante y Yoel Hernández Guerra.

Revisión de la literatura: Janet Villafuerte Reinante, Zuria Elisa Ayala Reina y Laura Naranjo Hernández.

Escritura del artículo: Janet Villafuerte Reinante y Yoel Hernández Guerra.

Revisión crítica: José Ángel González Alonso y Mirialys Brito Méndez.

Financiación: Universidad de Ciencias Médicas. Cienfuegos.

>>> REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santamarina A, Verdecia D, Segura M, Santamarina M, Verdecia Y, Fiallo A. Evaluación del Programa Nacional de Diagnóstico Precoz del Cáncer Cervicouterino en Bartolomé Masó

Márquez. Rev Cubana Enfermer [revista en Internet]. 2016 [citado 13 Feb 2018];32(3):[aprox.10p].

Disponiblen:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864192016000300014&lng=es

2. Rodríguez M, Portieles L, Quirós JL. Evaluación del Programa Nacional de Diagnóstico Precoz del Cáncer Cervicouterino. Medcentro Electrónica [revista en Internet]. 2014 [citado 20 Ene 2016];18(1):[aprox. 4p].

Disponiblen:<http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/1628/1339>

3. Sureda M, Martínez D. Una alerta para la mujer: factores de riesgo del cáncer cervicouterino. Medcentro Electrónica [revista en Internet]. 2014 [citado 20 Ene 2017];18(1):[aprox. 2p].Disponiblen:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432014000100007&nrm=iso

4. Moran RS, Quintero ML. Antecedentes sobre el cáncer cérvico-uterino en México e importancia de la educación sexual en la prevención temprana en jóvenes y población rural. Medwave [revista en Internet]. 2012 [citado 24 Ago 2017];12(7):[aprox.14p].Disponiblen:<https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Revisiones/Analisi/5453>

5. Cordero MJ, García PM. Citologías alteradas y diferentes factores de riesgo para el cáncer cervicouterino. Revista Ciencias Médicas La Habana [revista en Internet]. 2015 [citado 12Oct2018];21(2):[aprox.6p].Disponiblen:<http://www.medigraphic.com/pdfs/revciemedhab/cmh-2015/cmh152d.pdf>

6. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud 2015 [Internet]. La Habana: Dirección Nacional de Estadísticas; 2016 [citado 5 Ene 2017]. Disponiblen:<http://www.sld.cu/sitios/dne/>

7. Cordero J, García M. Citologías alteradas y algunos factores de riesgo para el cáncer cervicouterino. Rev Cubana Obstet Ginecol [revista en Internet]. 2015 [citado 12 Oct 2016];41(4):[aprox. 15p].Disponiblen:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2015000400005

8. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud 2017 [Internet]. La Habana: Dirección Nacional de Estadísticas; 2018 [citado 5 Ene 2019]. Disponiblen:<http://www.sld.cu/sitios/dne/>

Descargado el: 21-11-2019 ISSN 2221-24349. Piña JC, Crespo G, Fando R, Casanova, Curbelo M, Guerra MM. Identificación molecular de genotipos papilomavirus humanos en pacientes con cáncer de cuello uterino. AMC [revista en Internet]. 2016 [citado 10 2018];20(3):[aprox.10p].Disponiblen:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S10252552-

MEG@NALIZAR
Tecnología y Calidad al servicio de la Salud

- Endocrinología
- Química Clínica
- Marcadores Tumorales
- Marcadores Virales
- Hematología
- Inmunología
- Drogas Anticonvulsionantes
- Inmunosupresores

● Serología

El Megalaboratorio de los Bioquímicos de Cuyo
Rigurosos Controles Internos y Externos de Calidad

Más de 220 laboratorios de toda la Provincia de Mendoza,
confían en Meganalizar por Tecnología, Calidad y resultados en el día

Sede Laboratorio | Montecaseros 2478 Mendoza | Tel. 0261 4373241/42 | mega@analizar-lab.com.ar
Administración | Belgrano 925 Mendoza | Tel. 0261 4412355/65 | gerencia@analizar-lab.com.ar



016000300009&lng=es

10. Cueto IM, Díaz JC. Anuario estadístico de Internet]. 2015 [citado 23 Ene 2018];13(6):[aprox. 70p]. Disponible en: <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/3140/1934>
11. hope. Nature. 2014;508(7495):1589 Revista Colom Obstet Ginecol [revista en Internet]. 2006 [citado 23 Nov 2017];57(3):[aprox. 10p]. Disponible en: <http://sociales.redalyc.org/articulo.oa?id=195214319006>ISSN0034-7434>
12. Cardellá LL, Hernández RA. Bioquímica Médica. Bioquímica Especializada. 4ta. ed. La Habana: ECIMED; 2007
13. Consenso Intersociedades. Consenso Nacional Intersociedades sobre Cáncer de Cuello Uterino Agosto 2015. Rev Argent Radiol [revista en Internet]. 2017 [citado 26 Oct 2018];81(2):[aprox. 12p]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3825/382552124014.pdf>
14. Cirió GR, Herrera MA, Sanabria JG. Correlación citohistológica de las lesiones remalignas y malignas de cuello uterino. Rev Cienc Méd Pinar del Río [revista en Internet]. 2010 [citado 23 Ago 2017];14(1):[aprox. 8p]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942010000100010&lng=es
15. Sanabria JG, Cruz IC, Oriolo L, Pérez MA, Valdés B. Evaluación del seguimiento de mujeres con cáncer cervicouterino en dos policlínicos. Pinar del Río. Rev Cienc Méd Pinar del Río [revista en Internet]. 2012 [citado 23 Ago 2017];16(3):[aprox. 6p]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000300013&lng=es
16. Cienza J, Cueva F, Uchiyama E, Linares V. Factores de riesgo en cáncer de cuello uterino. Rev Perú Ginecol Obstet [revista en Internet]. 1997 [citado 16 Feb 2018];43(2):[aprox. 3p]. Disponible en: <http://www.spog.org.pe/web/revista/index.php/RP GO/article/view/1022/984>
17. Junqueira LC, Carneiro J. Núcleo Celular. En: Histología Básica. 6ta. ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2005: p. 345-405
18. Ojeda JM. Virus papiloma humano: de labiología a la clínica. Medwave [revista en Internet]. 2010 [citado 6 Feb 2018];10(7):[aprox. 10p]. Disponible en: <http://www.medwave.cl/link.cgi/medwave/puestadia/rc/reuniones/4619>
19. Alonso A, Pérez M, Vidal Z, Vidal A. Papel de la reprogramación metabólica en la carcinogénesis. CCM [revista en Internet]. 2016 [citado 27 Jun 2018];20(2):[aprox. 12p]. Disponible en: http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S156043812016000200007&lng=es
20. Hu ZY, Xiao L, Bode AM, Dong Z, Cao Y. Glycolytic genes in cancer cells are more than glucose metabolic regulators. J Mol Med. 2014;92(8):837-45
21. Iqbal MA, Siddiqui FA, Chaman N, Gupta V, Kumar B, Gopinath P, et al. Missense mutations in pyruvate kinase M2 promote cancer metabolism, oxidative endurance, anchorage independence, and tumor growth in a dominant negative manner. J Biol Chem. 2014;289(12):8098-105
22. Monzón OG, Mora E, Torres L, Gutiérrez LD, Rubi C. Bases moleculares del cáncer. Repertorio de Medicina y Cirugía [revista en Internet]. 2011 [citado 6 Feb 2018];20(4):[aprox. 5p]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/John_Sprockel/publication/267569757_Falla_cardiaca_descom_pensada_estratificacion_del_riesgo_de_mortalidad_intrahospitalaria/links
23. Cardellá LL, Hernández RA. Biología Molecular. La Habana: ECIMED; 2017
24. Zaldívar G, Martín F, Sosa CF, Ávila J, Lloret M, Román M, et al. Cáncer cervicouterino y virus del papiloma humano. Rev Chil Obstet Ginecol [revista en Internet]. 2012 [citado 10 Ene 2018];77(4):[aprox. 6p]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262012000400014&lng=es&nrm=iso&tlng=es26

Finlay145junio 2019 | Volumen 9 | Numero 2

Descargado el: 21-11-2019 ISSN 2221-2434

25. Rodríguez T, Yazigi R. Vacunación para virus papiloma humano: prevención de entidades precursoras del cáncer de cuello uterino. Rev Med Clin Condes [revista en Internet]. 2011 [citado 6 Feb 2018];22(4):[aprox. 8p]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864011704497>
 26. León G, Bosques OJ. Infección por el virus del actividad sexual en la génesis del cáncer de [revista en Internet]. 2005 [citado 4 Oct 2018];31(1):[aprox. 8p]. Disponible en
 27. Acevedo RCG, Álvarez E, Zafra RG, Álvarez NM, Gariglio P. Microarreglos de ADN y cáncer cervicouterino: identificación de marcadores tumorales. Ginecol Obstet Mex [revista en Internet]. 2007 [citado 19 Mar 2018];75(4):[aprox. 5p]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/ginobs-mex/go m-2007/gom074f.pdf29>
 28. Naranjo L, Mesa ZM, Rumbaut GI, Pérez G, Amechea GM. Lesiones cervicouterinas en jóvenes fuera de programa. Finlay [revista en Internet]. 2017 [citado 1 Feb 2018];7(3):[aprox. 5p]. Disponible en: <http://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/490>
 29. León G, Bosques O, Silveira M. Mecanismo de cáncer de cuello uterino. Rev Cubana Obstet Ginecol [revista en Internet]. 2004 [citado 30 Dic 2017];30(3):[aprox. 5p]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2004000300007&lng=es
- Revista Finlay146junio 2019 | Volumen 9 | Numero 2 ■

STANDARD Q



STANDARD Q COVID-19 Ag Test: Es un inmunoensayo cromatográfico diseñado para la detección cualitativa de antígenos específicos de SARS-CoV-2.

- Tiempo: 15-30 minutos
- Sensibilidad: 96.52% (111/115, 95% CI 91.33 – 99.04%)
- Especificidad: 99.68% (310/311, 95% 98.22 – 99.99%)
- Muestra: Hisopado nasofaríngeo
- Adecuado para pruebas en el punto de atención. Sin necesidad de equipo adicional
- Presentación: 25 test x kit
- Buffer inactivante viral certificado



STANDARD Q COVID-19 IgM/IgG Combo Test: Es un inmunoensayo cromatográfico diseñado para la detección cualitativa de IgM e IgG específicas para SARS-CoV-2.

- Tiempo: 10-15 minutos
- Sensibilidad: 96.94%
- Especificidad: 95.74%
- Muestra: sangre entera (20 ul) - suero/plasma (10 ul)
- Adecuado para pruebas en el punto de atención. Sin necesidad de equipo adicional
- Presentación: 40 test x kit (en un mismo cassette)

STANDARD F

Los **Analizadores STANDARD F** son sistemas de inmunoensayo fluorescentes cualitativos y cuantitativos diseñados para la medición fácil y fiable de diversos parámetros. La línea STANDARD F ofrece 3 modelos diferentes que pueden ser utilizados en función de su flujo de trabajo.



STANDARD F COVID-19 Ag FIA: Es un inmunoensayo fluorescente para la detección semicuantitativa con Cut off index de antígenos específicos de SARS-CoV-2.

- Tiempo de espera: menos de 30 mins
- Tipo de muestra: Hisopado nasofaríngeo
- T° de almacenamiento: 2-30°C
- Inmunoensayo Fluorescente (Europio)
- Mayor sensibilidad que un Test rápido
- Equipo necesario: Versatilidad. F2400 (70 test/hora), F200, F100
- Presentación: 25 Tests/kit
- Buffer inactivante viral certificado



STANDARD F COVID-19 IgG/IgM Combo FIA: Es un inmunoensayo fluorescente para la detección semicuantitativa con Cut off index de anticuerpos específicos de SARS-CoV-2.

- Tiempo de espera: menos de 30 mins
- Tipo de muestra: Sangre entera / Suero / Plasma
- T° de almacenamiento: 2-30°C
- Inmunoensayo Fluorescente (Europio)
- Mayor sensibilidad que un Test rápido
- Equipo necesario: Versatilidad. F2400 (70 test/hora), F200, F100
- Presentación: 40 Tests/kit

PROXIMAMENTE!

STANDARD M



- **nCoV Real-Time Detection kit:** Detección e identificación de ácidos nucleicos del nuevo coronavirus (2019-nCoV) en muestras de hisopados nasofaríngeos y de fauces.
- Compatible con equipos Lightcycler 480 (Roche), CFX96 DX System (Bio-rad), Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific).
- Presentación: 96 Test / Kit.

Estandarización y validación de pruebas de elisa tipo indirecto para la determinación de los niveles de anticuerpos IgG e IgE anti- leishmania, como método complementario para el diagnóstico y seguimiento de la respuesta al tratamiento.

>>> La Leishmaniasis es causada por un protozoo parásito del género *Leishmania* y transmitida por la picadura de flebótomos hembras infectadas. Tiene gran incidencia en poblaciones pobres. Es una de las 18 enfermedades más desatendidas del mundo, según catalogó la Organización Mundial de la Salud (OMS). Se estima que cada año se producen entre 700.000 y un millón de nuevos casos y entre 26.000 y 65.000 defunciones a nivel mundial. Es clara la necesidad de estar más actualizados sobre esta patología es por eso que le presentamos en siguiente trabajo de investigación.

>>> AUTORES

Revista conciencia n°2/vol.7: 39-51. Noviembre 2019.
issn: 2310-0265

Choquehuanca, José Luis (1) Sosa, Luis Fernando (1)
Bonifaz, Diego (2)

1 Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética, Instituto Seladis

2 Laboratorio de Genética y Biología Molecular Labogen srl

>>> RESUMEN

La leishmaniasis cutánea se caracteriza por la inducción de una respuesta inmune celular y humoral, siendo los niveles de anticuerpos IgG e IgE indicadores serológicos del diagnóstico, la progresión y resolución de la enfermedad. En el

presente estudio se estandarizaron dos pruebas de ELISA indirecto para determinar los niveles séricos de anticuerpos IgG o IgE contra antígeno soluble de *Leishmania braziliensis* (ASL). Se trabajó a partir de la cepa de *L. braziliensis* (MHOM/BR/75/M2903).

En el ELISA IgE se hizo un pre-tratamiento del suero con anticuerpos anti- IgG humano y Polietilenglicol (PEG); la dilución óptima de la muestra para ambos ELISA fue 1/21, la dilución del conjugado fue 1/500 para el ELISA IgG y 1/100 para el IgE.

Para el ELISA IgG estandarizado se encontró un índice de correlación de Kappa de 1 ($p < 0,05$), frente al ELISA comercial r-Biopharm®. Con una sensibilidad del 100%; 100% de especificidad, 100% valor predictivo positivo y 100% valor predictivo

negativo. Sin embargo ambos test de ELISA presentaron reacciones cruzadas con anticuerpos anti-*Trypanosoma*. La validez de los resultados demuestran que los ELISAs estandarizados pueden ser utilizados como herramienta de diagnóstico y seguimiento al tratamiento leishmanicida.

Palabras clave: Leishmaniasis, ELISA, IgG, IgE, Estandarización.

>>> INTRODUCCIÓN

Las *leishmaniasis* son un grupo de enfermedades parasitarias producidas por protozoos flagelados del género *Leishmania* que infectan principalmente a los macrófagos del hospedero, y otras células como neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y fibroblastos del hombre y mamíferos como el perro, roedores y marsupiales. Se transmite por la picadura del insecto vector flebótomo en el viejo mundo y *Lutzomyia* en el nuevo mundo (familia *Phlebotomidae*).

A nivel mundial existen alrededor de 12 millones de casos reportados de *leishmaniasis* y se estima que 350 millones de mujeres, hombres y niños de 88 países están en riesgo de contraer la enfermedad, 72 de estos países están en vías de desarrollo y 13 de ellos son considerados los países más pobres del mundo (Ministerio de Salud Pública, 2011).

En Bolivia, aproximadamente 80000 personas que viven en zonas tropicales y subtropicales están riesgo contraer la de infección (Ibañez Calero, 2008) y se calcula que existen 2 500 nuevos casos por año con una incidencia de 32.7% (Ministerio de Salud, 2012), Los parásitos asociados con *leishmaniasis* en nuestro país son: *L. braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. chagasi* y *L. guyanensis*; siendo las regiones endémicas para estas especies los departamentos de La Paz, Cochabamba, Santa Cruz, Beni, Pando y Tarija (Ministerio de Salud, 2012).



SCREENING O PESQUISA NEONATAL MP

Metodología ELISA-RIA -IRMA

- TSH • FENILALANINA • TRIPSINA • GALACTOSA
- BIOTINIDASA
- 17 OH PROGESTERONA NEONATAL

TARJETA REGLAMENTARIA PARA TOMA DE MUESTRA neonatal, medicina forense, filiación.

Autorizadas por ANMAT (PM 128-3)

NUEVO

- MSUD o leucinosi o Enf. de Jarabe de Arce


25(0h) Vitamina D
Calbiotech.

- Amplio Rango Dinámico: 0.25ng/mL a 150ng/mL
- Linealidad: 90% - 111%
- Reactividad cruzada del 100% respecto a D2 y D3
- Método MicroElisa



NUEVO

Tests Rápidos All Tests:

- MARCADORES CARDÍACOS
- MATERIALES DE INFLAMACIÓN SSA
- MARCADORES DE INFLAMACIÓN PCR

- MATERIALES PCT
- URINALISIS



LABORATORIOS BACON

Tel. +54(11) 47090171/70

ASESORAMIENTO CIENTÍFICO TÉCNICO

www.bacon.com.ar | ventas@bacon.com.ar

La defensa del organismo infectado con *Leishmania* involucra tanto la inmunidad celular como la humoral. En la primera intervienen macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células dendríticas y linfocitos T. La segunda esta mediada principalmente por anticuerpos IgG e IgE específicos contra *Leishmania* que son producidos gracias a las citoquinas generadas de la interacción entre linfocitos B y T. (Sousa, M.A. 2005). Un gran número de investigaciones han demostrado que en casos de una terapia leishmanicida exitosa especialmente con antimoniales pentavalentes, los niveles de anticuerpos IgG, IgM e IgE están significativamente reducidos con respecto a los niveles séricos antes del tratamiento (Atta, A.M. 2002).

El diagnóstico inicialmente se realiza en base a la presentación clínica de la lesión y la observación microscópica de los promastigotes en el frotis de lesión. La inmunofluorescencia indirecta (IFI), la reacción en cadena de la polimerasa y el ELISA indirecto suelen ser herramientas que ayudan al diagnóstico definitivo de la enfermedad en caso de parasitemias bajas. También son útiles para el seguimiento de la eficacia terapéutica y progresión de la enfermedad. (Salud O. M., 2010) (Oddone, R.; Canese, A., 2005). Por lo antes expuesto, en el presente estudio se estandarizó y validó dos test de ELISA indirecto que miden los niveles de anticuerpos de tipo IgG y tipo IgE contra antígeno soluble de *Leishmania braziliensis*.

>>> MATERIALES Y MÉTODO

Cultivo de Parásitos

Los promastigotes de *Leishmania (Viania) braziliensis* (MHOM/BR/75/ M2903) fueron cultivados en medio Schneider's suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB) y antibióticos (penicilina y estreptomycin al 0,5%) en una caja de cultivo de 25 cm³.

Los promastigotes fueron cultivados en estufa a 26 °C haciendo "pases" o cambios de medio cada 72 horas, para las pruebas in vitro fueron cosechados durante la fase estacionaria de crecimiento.

Obtención del antígeno soluble de *Leishmania*

(ASL)

Se recuperó el contenido de una caja de cultivo en un tubo Falcon de 15 ml, se realizaron tres lavados con tampón PBS (NaCl 130mM, Na₂HPO₄ 8,1mM, KH₂PO₄ 1,5 mM, pH 7,4 y 0,01M), luego, se centrifugó a 2500 rpm por 5 min, desechando el sobrenadante. Luego del tercer lavado, se resuspendió el precipitado en un volumen de 6 ml de PBS, se realizó el recuento de parásitos en cámara de Neubauer. Se realizó un protocolo de sonicación directa (100 watios y 3 pulsaciones por segundo), cumpliendo 10 ciclos alternos de 1 min. de sonicación y 30 seg. de reposo. A partir de la muestra total sonicada, se evaluaron dos protocolos, en el primero no se hizo ningún tratamiento adicional (Khairul, 1999), en el segundo protocolo se centrifugó la muestra a 6500g/15 min y se trabajó solo con el sobrenadante (Atta, 1998). En ambos casos la concentración de ASL fue evaluada por el método de Lowry obteniendo una concentración de entre 18 y 235 µg/ml, finalmente se guardaron las alícuotas de ASL a -20°C hasta el momento de su utilización.

Preparación de las placas de microtitulación de ELISA con ASL. Se tapizaron placas de poliestireno de 96 pocillos de fondo plano Greiner bioone (CELLSTAR®) por adsorción pasiva con la solución de ASL a las concentraciones de 20, 10 o 5 µg/ml. Se evaluaron dos tampones diluyente de ASL: Tampón Carbonato-bicarbonato 0,1 M pH 9.6 y el Tampón fosfato salino (PBS) 0,01 M pH 7.4, NaCl 1mM. Se sembraron 100 µl por pozo de la solución de ASL y se pre incubó por 30 minutos en agitación suave a 250 rpm y 37°C. Luego, se incubaron las placas a 4°C durante toda la noche. Para eliminar el antígeno no fijado o mal fijado a la superficie de los pocillos se realizaron tres lavados con PBS-Tween 20 al 0,05%.

En el pos tapizado se evaluaron dos soluciones bloqueantes que son comúnmente empleadas en los test de ELISA (PBS-Albumina Sérica Bovina (BSA) al 0,1% o PBS-Leche Morinaga al 5%), se añadieron 200 µl de la solución de bloqueo respectiva y se dejó en incubación a 37°C de una a dos horas. Esta acción se realizó para tapizar los sitios activos que no fueron recubiertas por el ASL (bloqueo de sitios activos de los micropozos).

Después, se procedió a lavar los pozos como se mencionó anteriormente y se guardaron las placas a -4°C hasta su utilización.

Estandarización de la técnica de ELISA indirecto para determinar anticuerpos IgG anti-leishmania

Para la estandarización del ELISA IgG se evaluaron los protocolos por triplicado:

- Determinación de la dilución óptima de los sueros: Se evaluaron las diluciones 1/21, 1/51, 1/100 y 1/500 de los sueros de referencia, control positivo (+) y negativo (-) en PBS-Tween-20 con BSA al 0,1%. Se añadió 100µl por pocillo en las placas de ELISA que contenían ASL a las concentraciones de 5, 10 y 20 µg/ml, se evaluaron diferentes temperaturas de incubación a 37°C (30 minutos, 1 hora y 2 horas), y se lavó las placas.
- Determinación del título óptimo del conjugado: se evaluaron las diluciones 1/100 y 1/500 de la anti-inmunoglobulina humana IgG conjugado con

peroxidasa (Sigma-Aldrich, USA) en PBS-Tween-20-BSA 0,1%, se añadieron 100µl de estas diluciones por pocillo, se incubó a 37°C por 30 minutos o 1 hora y se lavaron las placas.

c. Adición del cromógeno-sustrato: se añadieron 100 µl por pocillo de una solución de OPD disuelto en tampón citrato-fosfato 0,05 M pH 5 y 18 gotas de H_2O_2 (minutos antes de sus uso) y se dejó en incubación a 37°C por 30 min.

d. Parado de la reacción enzimática: se realizó añadiendo 50µl de H_2SO_4 3N por pocillo. Posteriormente se realizaron lecturas de las densidades ópticas a 490 con filtro de referencia a 630 nm en un lector de ELISA (Bio-teck Instruments Inc, USA).

Estandarización de la técnica de ELISA indirecto para determinar anticuerpos IgE anti-leishmania.

Para eliminar la competencia por el sitio activo del determinante antigénico por las inmunoglobulinas de tipo IgG (Atta, 1998), se realizó un

AVAN
Tecnologías IVD



H-900 ANALIZADOR DE ELECTROLITOS AUTOMÁTICO

De diseño simple pero confiable. Descarte directo por lo que reduce el riesgo de las obstrucciones y la contaminación cruzada. Procesa grandes volúmenes de trabajo en forma automatizada.

GASTAT 700SERIES SISTEMAS DE GASES EN SANGRE MULTIPARÁMETROS

Fácil de usar, fácil de mantener. La evolución en el análisis de gases en sangre con una nueva propuesta innovadora de Techno Medica Co. Ltd.



Analizadores de GASES EN SANGRE

Padre M. Ashkar N°688 - (CP1672) Gral. San Martín, Bs. As. Argentina
(54 11) 4754-2168 rot. - Whatsapp +54 9 11 6228-4796
info@avan.com.ar - www.avan.com.ar

pre-tratamiento a los sueros controles positivos (+) y negativos (-) con una solución de anticuerpos anti-IgG humano diluido 1/500 en solución salina fisiológica (SSF). Para ello se mezcló 200 µl de los sueros control con 25 µl del precipitante de IgG y se incubó por una hora a 26°C en agitación constante a 250 rpm. Luego, se añadieron 160 µl de SSF y 60 µl de polietilenglicol al 12,5 % (PEG) se mezcló bien y se dejó en incubación por 30 min. a 37°C, se centrifugaron los tubos a 3500 rpm por 15 min. El sobrenadante libre de IgG fue utilizado para estandarizar la prueba de ELISA.

- a. Determinación de la dilución óptima de los sueros: Tomando en cuenta el factor de dilución previo, se hizo el ajuste a diluciones 1/10 y 1/21 de los sueros control positivo (+) y negativo (-), se empleó como diluyente PBS-Tween 20-BSA al 0,1 %. Para evaluar la efectividad del proceso de precipitación de IgGs se evaluó sueros pre-tratados y sueros sin pre-tratamiento, se añadió 100 µl por pocillo en las placas de ELISA con concentraciones de 10 y 20 µg/ml de ASL, se incubó a 37°C por una hora y se lavaron las placas.
- b. Determinación del título óptimo del conjugado: se evaluaron las diluciones 1/100 y 1/500 de la anti-inmunoglobulina humana IgE conjugado con peroxidasa en PBS-Tween 20-BSA 0,1 %, se añadieron 100 µl por pocillo e incubó a 37°C por 30 min. Después se lavaron las placas tres veces.
- c. Adición del cromógeno-sustrato: se añadieron 100 µl por pocillo de la solución de OPD disuelto en tampón citrato-fosfato 0,05 M pH 5 y se dejó en incubación a 37°C por 30 min.
- d. Posteriormente, se detuvo la reacción enzimática mediante la adición de 50 µl de H₂SO₄ 3N por pocillo. La lectura de las densidades ópticas: se realizó de la misma manera que para el ELISA IgG.

Repetitividad y reproducibilidad de los datos de los test de ELISA estandarizados.

Para determinar la repetitividad y reproducibilidad de los ELISA estandarizados, se evaluaron mediante sueros control positivo y negativo que fueron tomados al azar de entre los sueros utilizados durante el proceso de estandarización. Para ambos parámetros se procesó las muestras bajo las condiciones de trabajo esta-

blecidas como óptimas para cada ELISA. El proceso de re- producibilidad fue realizado de manera cegada por diferentes operadores.

Validación de los ELISA estandarizados

Para los dos ELISA estandarizados se realizó el test diagnóstico con un panel de 15 sueros positivos para *leishmaniasis* y 10 sueros negativos gentilmente cedidos por el laboratorio de Parasitología del Instituto Nacional de Laboratorios en Salud (INLASA). En el caso del ELISA IgG anti ASL se determinó la correlación de resultados frente a un kit ELISA comercial que determina anti- cuerpos IgG anti *Leishmania* (r-biopharm, Alemania). En el caso del ELISA que mide anticuerpos IgE contra ASL, al no existir un kit comercial que mida este tipo de anticuerpos, se realizó la validación frente a la condición de sano o enfermo de los pacientes ya que estos mediante clínica y laboratorio de les había descartado o confirmado la enfermedad. Se realizaron los cálculos de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y el índice *Kappa* para determinar el grado de correlación entre los dos métodos utilizados.

>>> RESULTADOS

Obtención del antígeno soluble de *Leishmania* (ASL).- No se encontró diferencias notables a nivel de la cantidad de ASL obtenido entre los dos protocolos evaluados, se evidenció que existía proporcionalidad entre las concentraciones de ASL obtenidas ($p > 0,05$): Sin embargo en la práctica, se obtuvieron mejores resultados con el protocolo de obtención de ASL a partir del sobrenadante de los promastigotes sonificados. Este protocolo de obtención de ASL permitía obtener una concentración de antígenos proteicos en el rango de rango de 180 a 230 µg/ml.

Condiciones óptimas de trabajo de las pruebas de ELISA estandarizadas

Se determinó que para lograr un tapizado óptimo de los pocillos de ELISA tipo IgG, se deben sembrar por pozo 100 µl de ASL a la concentración de 10 µg/ml diluido en tampón carbonato/bicar-

Revista

bioanálisis

**EN CUARENTENA
AUMENTÁ TUS VENTAS Y POSICIONÁ TU MARCA**
publicá con nosotros

- ▶ **PROMOCIONÁ TUS PRODUCTOS EN TODO EL PAIS.**
- ▶ Contamos con más de 26.000 mails de profesionales del area, suscriptos a nuestra edición on-line. Tenemos convenios con varios colegios y asociaciones del país, para distribuir entre sus asociados nuestro formato digital. Y seguimos continuamente trabajando para mejorar nuestro alcance, maximizando la llegada a lectores de todo el territorio Argentino y paises limítrofes.
- ▶ **NUESTROS LECTORES DISFRUTAN LOS EJEMPLARES DESDE CUALQUIER PLATAFORMA, CON LA OPCIÓN DE DESCARGAR LA REVISTA COMPLETA EN PDF.**

bonato 0,01M, pH 9,6; el post tapizado debe realizarse con 200 µl de PBS-BSA al 0,1%. Se deben sembrar 100 µl de los sueros o controles diluidos 1/21 en PBS-Tween-20 con BSA al 0,1% e incubarse por una hora. El lavado de la placa se debe realizar tres veces con 300µl de PBS-Tween 20 al 0,05%. Se adiciona 100 µl de conjugado diluido 1:500 y se incuba por 30 minutos. Se repite el proceso de lavado y se añade 100 µl por pocillo de una solución de 2,2 mg/ml de OPD y 1,8 µl /ml de H₂O₂, incubándose por 30 minutos. La reacción debe ser detenida con la adición de 50µl de H₂SO₄ 3N por pocillo. Y las densidades ópticas deben leerse a las longitudes de onda de 490-630 nm. Todos los procesos de incubación se realizaron a 37°C.

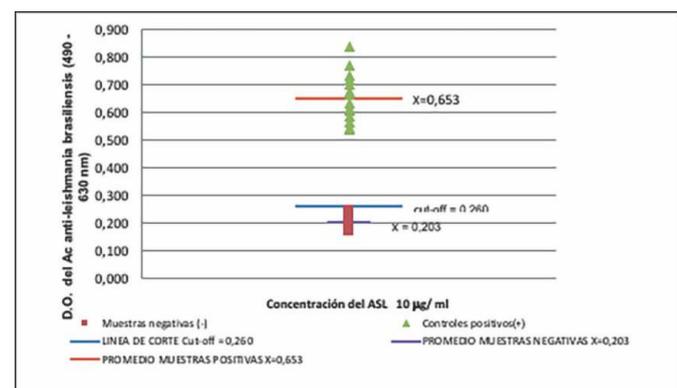
En el caso del ELISA que mide niveles de anticuerpos IgE, se estableció que el tapizado de ASL debe realizarse en las mismas condiciones que para IgG con la salvedad de que el antígeno debe estar a la concentración de 20 µg/ml. En este ELISA todos los tiempos de incubación, el proceso de lavado de las placas, y de dilución de: muestras, controles y conjugado fueron realizados en las mismas condiciones que en el ELISA mencionado en el párrafo anterior. Se estableció que debe sembrarse 100 µl suero libre de anticuerpos IgG a la dilución 1/21 e incubar por una hora, debe sembrarse 100 µl del conjugado a la dilución 1/100 e incubarse por 30 minutos; sembrar 100 µl del cromógeno/sustrato (OPD/H₂O₂) e incubar por otra media hora, la parada de la reacción y la lectura de las densidades ópticas se realizó como en el ELISA antes mencionado.

Determinación de las líneas de corte de los dos ELISAs estandarizados

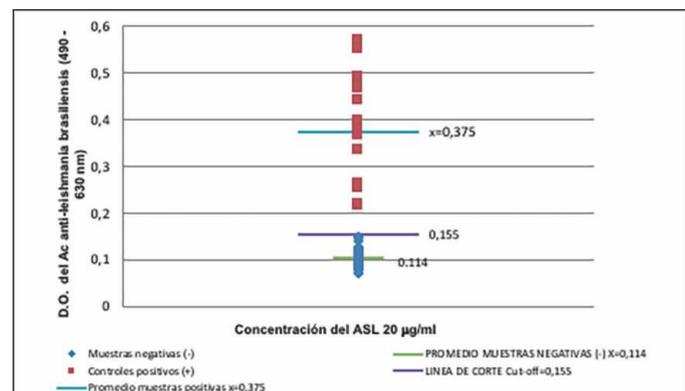
La línea de corte de cada test de ELISA se obtuvo procesando 50 muestras negativas para *leishmaniasis* por clínica y laboratorio. Para el ELISA IgG anti *Leishmania* el valor promedio de las DO de las muestras fue 0,203 ($p < 0,05$), con desviación estándar de 0,019, la línea de corte se estableció sumando 3 veces la desviación estándar ($3 \times 0,019$) al valor promedio, estableciéndose un valor de corte de 0,260. Para el ELISA IgE anti *Leishmania* el valor promedio de las DO de las muestras negativas fue 0,114 ($p < 0,05$), desviación

estándar 0,017, estableciéndose un valor de línea de corte a un valor de DO de 0,155. Durante la determinación de la línea de corte a manera de control de calidad se evaluaron 15 muestras positivas para *leishmaniasis* diferentes a las utilizadas en el proceso de estandarización antes mencionado (figuras 1 y 2).

>> **Figura 1.** Determinación de la línea de corte del ELISA IgG anti-*Leishmania braziliensis* estandarizada procesando 50 muestras negativas.



>> **Figura 2.** Determinación de la línea de corte del ELISA IgE anti-*Leishmania braziliensis* estandarizada procesando 50 muestras negativas.



Repetitividad y reproducibilidad de los datos de los test de ELISA estandarizados.

Los resultados de repetitividad de los ELISA IgG o IgE anti-*Leishmania* estandarizados en el laboratorio se muestran en las tablas 1 y 2. Se destaca en el caso del ELISA IgG que las desviaciones estándar (DS) son \leq a 0,008 unidades de D.O y que los coeficientes de variación (CV) tanto de muestras positivas como negativas fueron menor al 1%. En el caso del ELISA IgE los hallazgos fueron similares siendo las DS igual a 0,002 y los CV \leq 2,1%.

>> **Tabla 1.** Resultados de determinación de la repetitividad interensayo de los ELISA estandarizados que miden anticuerpos anti antígeno soluble de Leishmania.

REPETITIVIDAD DEL ESTUDIO								
	ELISA IgG				ELISA IgE			
	Suero (+)	PROMEDIO	Suero (-)	PROMEDIO	Suero (+)	PROMEDIO	Suero (-)	PROMEDIO
ANALISIS 1 Tiempo 0	0,886	0,885	0,214	0,218	0,423	0,425	0,085	0,084
	0,883		0,221		0,426		0,082	
ANALISIS 2 a 48 horas	0,867	0,869	0,222	0,220	0,425	0,423	0,081	0,082
	0,871		0,217		0,421		0,083	
ANALISIS 3 a 96 horas	0,879	0,884	0,227	0,223	0,426	0,424	0,086	0,083
	0,888		0,219		0,422		0,079	
ANALISIS 4 a 144 horas	0,875	0,880	0,224	0,220	0,428	0,427	0,084	0,086
	0,884		0,215		0,426		0,088	
ANALISIS 5 a 192 horas	0,869	0,867	0,221	0,226	0,421	0,423	0,080	0,082
	0,864		0,231		0,424		0,083	
PROMEDIO		0,877		0,221		0,424		0,083
DS		0,008		0,003		0,002		0,002
CV		0,010		0,015		0,004		0,021

En la tabla 2, se muestra los resultados de la evaluación de la reproducibilidad de los resultados de los ELISA estandarizados, se observa que para ambos, las DS no superan el valor de 0,004 unidades de DO y que el CV fue menor al 1% para las muestras positivas y no mayor al 2,1% en el caso de las muestras negativas.

>> **Tabla 2.** Resultados de reproducibilidad de los ELISAs estandarizados obtenidas de los tres análisis realizados a los sueros control positivo y negativo a diferentes tiempos.

	IgG		IgE	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
T1	1,102	0,225	0,425	0,068
T2	1,110	0,231	0,421	0,065
T3	1,103	0,235	0,428	0,066
PROMEDIO	1,105	0,230	0,425	0,066
DS	0,004	0,005	0,004	0,002
CV	0,004	0,022	0,008	0,023

Test diagnóstico (validación) para determinar la

CENTRO DE DERIVACIÓN

- Asesoramiento y consulta permanente.
- Trazabilidad de las muestras.
- Política de seguridad de envíos.
- Adecuado abastecimiento de materiales de apoyo necesarios para la correcta derivación.
- Confiabilidad en los resultados.
- Directorio de Análisis.

CLIENTES: Aseguradoras de Riesgo de Trabajo - Centros de Diálisis
Clínicas Veterinarias - Hospitales Públicos - Hospitales Privados
Laboratorios Clínicos Humanos - Laboratorios Clínico Veterinarios
Policlínicos - Sanatorios - Logística

LABORATORIO CENTRAL

San Lorenzo 164 - Tel/Fax: 54 - 2983 - 420867 (central rotativo)
Urgencia: (02983) 15 406395 - (B7500IGD) Tres Arroyos - Bs As.
E-mail: cismalab@cismalab.com.ar - www.cismalab.com.ar



correlación de resultados de los ELISA estandarizados.

En la tabla 3, se muestra los resultados del test diagnóstico, en el que se determinó un 100% de correlación de resultados entre el ELISA estandarizado que mide anticuerpos IgG anti ASL frente al kit de referencia comercial ; se determinaron valores de Sensibilidad del 100%, Especificidad 100%, VPP y VPN del 100% respectivamente, el índice de correlación de *Kappa* encontrado fue de 1,00 ($p < 0,05$). Para el ELISA que mide anticuerpos IgE anti ASL los valores encontrados de sensibilidad, especificidad VPP y VPN fueron del 100% para cada caso, el índice de correlación de *Kappa* también fue de 1,00 ($p < 0,05$).

>>> **Tabla 3.** Resultados de los paneles de sueros positivo y negativo según los ELISAs estandarizados frente a un kit comercial en el caso de la determinación de anticuerpos IgG o pacientes sanos y enfermos en el caso de la determinación de anticuerpos IgE.

		ELISA IgG			ELISA IgE		
		MUESTRAS PROCESADAS POR EL ELISA COMERCIAL RIDASCREEN-BIOPHARM®			CONDICION DEL PACIENTE SANO / ENFERMO		
		POSITIVOS	NEGATIVOS	TOTAL	ENFERMO	SANO	TOTAL
MUESTRAS PROCESADAS POR EL ELISA ESTANDARIZADO	POSITIVOS	15	0	15	15	0	15
	NEGATIVOS	0	10	10	0	10	10
	TOTAL	15	10	25	15	10	25

>>> DISCUSIÓN

La bibliografía científica plantea diferentes métodos para la obtención de antígeno soluble de *Leishmania*, cada uno con características peculiares, Khairul (1999) plantea que los promastigotes deben estar en fase estacionaria de crecimiento, y se debe realizar la “cosecha ” después del tercer o cuarto “pase de cultivo” luego, se deben lisar los parásitos y cuantificar para determinar la concentración de proteínas. Otro método plantea que después del sonicado de la muestra, esta debe ser centrifugada a 4300 g (6800 rpm) para obtener el antígeno soluble de *Leishmania* a partir del sobrenadante (Khairul, 1999). En el presente trabajo se evidenció que cuando se tapiza los micropo- zos de ELISA con el

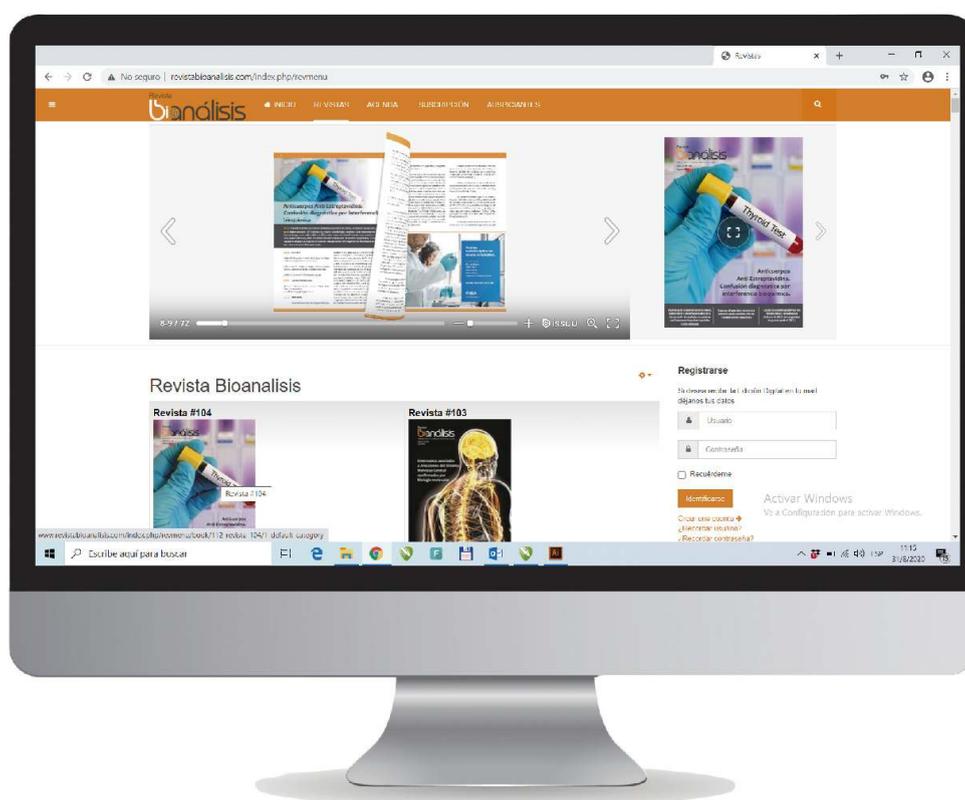
ASL proveniente directamente del sonicado, las impurezas contenidas en el ASL son reconocidas de manera inespecífica (reacción cruzada) por anticuerpos IgG, favoreciendo resultados falsos positivos en el ensayo. Al centrifugar el ASL y trabajar con el sobrenadante se eliminan estas uniones inespecíficas de los anticuerpos.

Los resultados demostraron que no existe diferencia significativa al utilizar uno u otro tampón (Carbonato/Bicarbonato y Fosfato Salino), (Iniesta, 2007) como diluyente del ASL en el tapizado. Sin embargo en el postapizado, cuando se utilizó la solución de PBS–Leche Morinaga al 5%, se pudo evidenciar que las absorbancias tanto de las muestras positivas como negativas eran elevadas (DO mayor) en relación al tampón PBS-BSA al 0,1%, tanto de las muestras positivas como de las negativas.

Si bien los investigadores S. Iñiguez y K. Anam, trabajaron con métodos de obtención de ASL similares al nuestro, la concentración de ASL que utilizaron en sus estudios fueron de 2,5 µg/ml y 20 µg/ml para IgG e IgE, respectivamente, lo cual difiere de los resultados obtenidos en el presente estudio que fueron de 10µg/ml y 20 µg/ml respectivamente.

Para determinar la dilución de suero y del conjugado, se evaluaron 4 protocolos de trabajo (Choquehuanca, 2011) con diferentes tiempos de incubación y diluciones, tanto del suero como del conjugado (dato no mostrado). Estas diferencias se hicieron en base a estudios previos publicados (Ministerio de Salud Pública, 2011) (Iniesta, 2007) (Khairul, 1999) (Sousa A. A., 1999) y la experiencia de nuestro laboratorio en la realización de ELISA para diagnóstico de otras patologías, encontrando el segundo protocolo el más apto para nuestro estudio, con tiempos de incubación de los sueros control de 1 hora, 30 minutos del conjugado y del sustrato y a una dilución del conjugado de 1/500, se obtuvieron los mejores resultados, mayor discriminación entre los resultados de sueros positivos y negativos, los valores de absorbancia estuvieron dentro de los rangos que nos habíamos propuesto de >0,800 para los positivos y <0,300 para los controles negativos.

Revista Bioanálisis



www.revistabioanalisis.com

 Revista Bioanálisis

 @revista.bioanalisis

El pre-tratamiento realizado para eliminar la competencia por el sitio activo del determinante antigénico del ASL por los anticuerpos tipo IgG anti-*Leishmania*, demostró que, a diferencia de Souza, y Atta, que utilizaron para este fin anticuerpos IgG anti IgG-humana y reactivo absorbente de factor reumatoideo (RF), existe una disminución promedio de los niveles de DO de IgG del 43,24% en caso de los sueros positivos y 18,50% para los negativos.

En el estudio realizado por Atta se muestra que existe una disminución del 39,2% de disminución para los sueros positivos, en relación con otro método de eliminación que solo alcanza el 11% (Atta, y otros, 2002). En nuestro estudio, también se muestra que, el pre-tratamiento elimina la interferencia producida por estos anticuerpos y se observa un porcentaje promedio de disminución de las DO de IgE de 61,93% para las muestras positivas y 32,0% para las muestras negativas.

Basado en experiencias anteriores de estandarización de ELISA, al procesar 50 muestras negativas se encontró un valor promedio de 0,203 ($p < 0,05$) y una desviación estándar de 0,019, sumando 3 veces la desviación estándar ($3DS = 0,057$) al promedio, se determinó que, el valor de la línea de corte era de 0,260, esta sumatoria de 3 DS al promedio de DO también fue utilizada por Souza, M.L.B., Iniesta, V y de Sousa, M.A.

Para determinar la línea de corte del ELISA IgE anti-*Leishmania* estandarizado se procedió de la misma forma que para el ELISA IgG, encontrando un valor de línea de corte de 0,155. En la determinación de anticuerpos IgE realizado por AM Atta, se encontraron valores promedio de sueros positivos $DO = 0,108$ y de $DO = 0,104$ en el estudio realizado por M.L.B. Souza, cabe resaltar que ambos estudios fueron realizados para la determinación de *leishmaniasis* visceral y al igual que para IgG anti-*Leishmania* no reportan los valores de línea de corte.

Se encontró el 100% de concordancia al medir la repetitividad y la reproducibilidad de ambos ELISA estandarizados, tanto en sueros control positivo como negativo, en la repetitividad se presentó una diferencia promedio máxima del

suero control positivo de $DO = 0,018$ y de $DO = 0,008$ en el suero control negativo para el ELISA IgG y de $DO = 0,004$ y de $DO = 0,004$ respectivamente para el ELISA IgE, al realizar ambos análisis a 5 tiempos diferentes con intervalos de 48 horas y bajo las mismas condiciones.

La validación del ELISA IgG estandarizado se hizo frente al ELISA comercial r-Biopharm®, se observó que las absorbancias obtenidas eran muy parecidas tanto de las muestras positivas como de las negativas no existiendo una diferencia mayor a 0,180 unidades de DO en el caso de las muestras positivas y 0,100 en el caso de las muestras negativas, se observó también que existe un 100% de correlación de resultados verdaderos positivos y verdaderos negativos del 100% (índice de correlación de *Kappa* de 1; $p < 0,05$), Sousa, M.A. (2005) demostró que existe una correlación positiva entre los niveles séricos de IgE anti-*leishmania* y la reacción de Montenegro, lo cual sugiere que estos anticuerpos participan en el proceso de la inmunorregulación de la *leishmaniasis* cutánea. En el presente estudio al no contar con un kit comercial que mida IgE anti-*Leishmania* que esté validado para uso en diagnóstico, realizamos la validación frente a la condición de sano o enfermo de los pacientes establecida mediante parámetros clínicos y de laboratorio, este kit casero también demostró una eficiencia diagnóstica del 100% e índice de *Kappa* de 1,00 ($p < 0,05$). Sin embargo, se observó que el ELISA tipo IgG da un 100% de reacción cruzada con sueros de pacientes que cursan enfermedad de Chagas; en el caso del ELISA IgE se determinó un 93,3% de reacciones cruzadas (datos no mostrados). A este respecto, Atta, A.M. y Souza, M.L.B. (2002) estandarizaron estos tipos de ELISA, demostrando para sus test valores de sensibilidad y especificidad 100%, ninguno de los investigadores muestran datos acerca de las posibles reacciones cruzadas de sus ELISA frente a parásitos de la familia Trypanosomatidae

Otro aspecto a resaltar de los dos ELISA estandarizados es el hecho de que en las evaluaciones de precisión intra e inter ensayo demostraron coeficientes de variación menores al 2,1%. Con todos los datos obtenidos se ha demostrado que la rigurosidad empleada para estandarizar los ELISA,

Los lectores en cuarentena
aumentaron un 80%.
¡ES HOY TU OPORTUNIDAD!

**EN CUARENTENA
AUMENTÁ TUS VENTAS Y
POSICIONÁ TU MARCA**
publicá con nosotros

PARA MÁS INFOMARCIÓN



261 681-6777



ventas@revistabioanálisis.com



www.revistabioanálisis.com



Revista

bioanálisis

ha permitido demostrar la validez de los kits case-ros para ser utilizados como pruebas de diagnós-tico de laboratorio y de seguimiento de la respues-ta al tratamiento en pacientes con *Leishmaniasis*.

No menos importante es también el he-cho de que el análisis de costo permite disminuir en un 65% el costo que implica la realización de un ELISA mediante kits comerciales, esto permitiría que pacientes de bajos recursos económicos pue-dan a bajo costo acceder al laboratorio para el diagnóstico y seguimiento de su enfermedad.

Agradecimientos

Agradecimientos especiales al Dr. Luis Fernando Sosa, responsable del Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética del Insti-tuto SELADIS; Dra. Katuska Gonzales, profesora de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Farma-céuticas y Bioquímicas (FCFB) de la Univer-sidad Mayor de San Andrés; Dr. José Antonio Santalla, responsable del Laboratorio de Parasitología y Entomología del instituto INLASA; Dra. Grace Ruiz, investigadora del Instituto de Investi-gaciones Farmacéuticas y Bioquímicas (FCFB – UMSA); Dra. Jacqueline Calla, responsable del laboratorio de Inmunología del Instituto SELADIS y al Instituto de Servicios de Laboratorios de Diagnóstico e Investigación en Salud SELADIS.

>>> BIBLIOGRAFÍA

Atta, A.M., Sousa, A. Atta, M., D'Oliveira, A., Almeida, R., Araújo, M., Carvalho, E. (2002). IgG Anti-IgE Autoantibodies in Visceral Leishmaniasis. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 101-103.
 Abaira, V. (2000). El índice kappa. SEMERGEN, 247-249.
 Agudelo Lopez, S. d., Robledo Restrepo, M. (2000). Respuesta Inmune en Infecciones Huma-nas por *Leishmania* spp. Latreia, 167-178.
 Ampuero, J. (2005). Factores de riesgo para la transmisión de leishmaniasis cutánea en niños de 0 a 5 años en un área en- démica v. Cad. Saúde Pública, 161-170.
 Atta, A. (1998). Anti-Leishmanial IgE Antibodies: A Marker of active disease in visceral Leishmaniasis. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene, 426- 430.

Bensoussan, E., Nasereddin, A. (2006). Compa-ri-son of PCR Assays for Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis. Journal of Clinical Microbiology, 1435-1439.

Choquehuanca, Jose Luis. (2011). Estandarizacion de pruebas de ELISA de tipo indirecto para la determinacion de los niveles de anticuerpos IgG e IgE anti *Leishmania*, como metodo complemen-tario para el diagnostico. Conjivaram Vidyashan- kar, M. (2009). Leishmaniasis. Medscape. Corning, I. (2001). Effective Blocking Procedures. Nueva York, Estados Unidos.

Dias Costa, J. (2007). *Leishmania* chagasi: Cytotoxic effect of infected macropha- ges on parenchymal liver cells . Experimental Parasito-logy, 390-398. Henao, H. H. (2004). Eficacia y toxicidad de los antimoniales pentavalentes (*Glucantime*® y *Pentostam*®) en un modelo animal de leishmaniasis cutánea americana: aplicación de la luminometría. Biomedica, 303-402

Hernández Ruiz, J. (2006). Linfocitos T citotóxicos CD8+ en la leishmaniasis cutánea. Salud pública de méxico, 430-439. Ibañez, S. (2008). Evaluacion de la flora en el valle de zongo contra leishmania y chagas. revista Boliviana de química, 43. Iniesta, L. (2007). Diagnostico de la Leishmaniosis críptica en el perro. Expresion Isotípica e Idiográfica de los anticuerpos producidos en distintas fases de la infeccion. Barcelona, España. Iñiguez, S. R. (2004). Leishmaniosis visceral en el criceto dorado. Madrid, Madrid, España. Isabel, N. H. (1999). Eosinofilia y parasitosis. Revista Chilena de pediatria, 435-440. Khairul, A. (1999). Differential Decline in *Leishmania* Membrane Antigen-Specific Immunoglobulin G (IgG), IgM, IgE, and IgG Subclass Antibodies in Indian KalaAzar Patients after Chemotherapy. Infection and Immunity, 6663–6669. Kouris, E., Calebotta, A., González, F. (2005). Eosinofilos: su rol en la patología dermatológica severa. Dermatología Venezolana, 8-16. Llanos Medina, F., Espinoza, B. (2009). Extracción acuosa de corteza de *Galipea longiflora* y su actividad leishmanicida. Biofarbo, 32-38. Manual de diagnostico y tratamiento de la leishmaniosis. (2011). Asuncion, Asuncion , Paraguay. Martínez Salazar, B. (2008). El ADN de *Leishmania mexicana* activa al macrófago murino e induce aumento en la expresión de TLR9. Medigraphic, 99-104. McFarlane, E. (2008).

- Neutrophils Contribute to Development of a Protective Immune Response during Onset of Infection with *Leishmania donovani*. *Infection and Immunity*, 532-541. Mollinedo, S. (2010). leishmaniasis en bolivia, epidemiología de fin de siglo. la paz, la paz, bolivia. Mollinedo, S., Monasterios, H. (2007). Leishmaniasis, Guía operativa para el control en Bolivia. La Paz, La Paz, Bolivia. Montoya, I., Padilla, C. (1997). Diagnóstico molecular para Leishmaniasis. *Revista Medica*, 25-28. Mossalayi, M., Arock, M. (1999). The Human Immune Response during Cutaneous Leishmaniasis: No Problem. *Parasitology Today*, 342-345. Oddone, R. Canese, A. (2005). Leishmaniasis tegumentaria: sensibilidad de la inmunofluorescencia indirecta en pacientes con diagnóstico parasitológico. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Paraguay*, 15-18. OPS; OMS. (2007). Sistema regional de datos básicos en salud - perfil de país resumen del análisis de situación y tendencias de salud bolivia . La Paz, La Paz. Padron, M., Diaz, A. (2007). Valor pronóstico de los cambios fisiológicos asociados a la quimio-resistencia en *Leishmania* Academia Biomédica Digital, Fac. Medicina, Universidad Central de Venezuela, Octubre-Diciembre 2007;33. *Vitae*.
- Paraguay, Ministerio de Salud. (2011). Manual de Diagnóstico y Tratamiento de la Leishmaniosis. Parreira de Arruda, M. S., & Salles Nogueira, M. E. (2002). Histological evaluation of the lesion induced by inoculation of *Leishmania mexicana* in the cheek pouch of the hamster. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 203-297. Péterfia, Z., Kocsisa, B. (2008). Comparison of Blocking Agents for an Elisa for Lps. *Journal of Immunoassay*, 341-354. Pearce, R. (2007). Comparison of Blocking Agents for ELISA. Cambridge Research Laboratories, England. Technical Bulletin . Reithinger, R. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *The Lancet Infectious Diseases*, 581- 596. Riera, M., Gállego, C. (s.f.). Las Leishmaniosis Humanas: Leishmaniosis autoctona por *Leishmania infantum*. Barcelona, España. Ruiz, J. H.(2007). CD 8 Cytotoxic T cells in Cutaneous Leishmaniasis . *Parasite immunology*, 671-678. Salud, Ministerio. (2012). Situación epidemiología de la Leishmaniasis. *Memorias de Epidemiología. Salud, Organización Mundial* (2010). Control de la Leishmaniasis. Salud, Organización Panamericana (2013). Leishmaniasis en las Américas. Recomendaciones para el tratamiento. Silveira, F., Lainson, R., Corbett, C., (2004), Clinical and Immunopathological Spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis with Special Reference to the Disease in Amazonian Brazil – A. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*,. 239- 251 Sousa, A. Araujo, M. (1999). Detection of specific IgE antibodies in parasite diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 1101-1105. Sousa, M.A.; Da Silva, A.; Alfonso-Cardoso, S., (2005) Perfil de isotipos de inmunoglobulinas e subclasses de IgG na leishmaniose tegumentar americana, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 137-141. Vouldoukis, I., Issaly, F.(1994). CD23 and IgE expression during the human immune response to cutaneous leishmaniasis : Possible role in monocyte activation. *Research in Immunology*, 17-27. Zanger, P., Kötter, I., Kremsner, P. and Gabrysch, S., (2011). Tumor necrosis factor alpha antagonist drugs and leishmaniasis in Europe. *Clinical Microbiology and Infection. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* Zerpa, O., Borges, R. (2002). Comparación de cinco métodos para el diagnóstico de leishmaniasis cutánea. *Dermatologia Venezolana*, 106-11 ■



COVID-19: NUEVO DESARROLLO ARGENTINO Biocientífica SA desarrolla un nuevo kit de RT-PCR para SARS-CoV-2 de alta sensibilidad.

>>> La ANMAT aprobó el test desarrollado y elaborado 100% en Argentina por la firma Biocientífica SA para la detección cualitativa del virus SARS-CoV-2 basado en tecnología RT-PCR en tiempo real como ayuda para el diagnóstico de COVID-19.

>>> El jueves 6 de agosto la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) aprobó el kit de diagnóstico *in vitro* **Schep SARS-CoV-2 RT-PCR Duo**. El test fue desarrollado y es elaborado por la firma **Biocientífica SA**, empresa argentina de biotecnología, destinado a la detección del virus SARS-CoV-2 por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real, el método de referencia a nivel mundial para la detección de este virus.

El producto fue desarrollado íntegramente por el equipo de investigación, desarrollo e innovación (I+D+i) de Biocientífica SA y será manufacturado en la planta de la misma empresa en Buenos Aires, bajo estándares internacionales de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP). Se prevé

una producción inicial 20000 determinaciones mensuales, escalable en meses próximos.

El kit **Schep SARS-CoV-2 RT-PCR Duo** permite la detección específica del virus SARS-CoV-2 a partir de ARN (ácido ribonucleico) viral con alta sensibilidad, debido a que detecta simultáneamente 2 secuencias diana (*target*) del SARS-CoV-2. Por un lado, la región del gen E, común a los virus del género *Sarbeco*, lo cual permite un ensayo de tamizaje (*screening*). Por el otro, la región del gen RdRp, específica del SARS-CoV-2, por lo que se constituye a la vez en un ensayo confirmatorio, que arroja resultados en 90 minutos.

El kit **Schep SARS-CoV-2 RT-PCR Duo** fue diseñado con una doble premisa: primero, brindar

brindando 100% de sensibilidad y 100% de especificidad. Segundo, facilitar la operatoria de los profesionales de los laboratorios de detección que están en el frente contra la pandemia. Por ese motivo, el kit cuenta con todos los reactivos listos para usar, no requiriendo preparaciones previas y posee controles a fin de asegurar la calidad del ensayo. En el diseño del producto también se tuvo en cuenta que pueda utilizarse en la mayoría de los aparatos de PCR en tiempo real de formato simple y económico, ya que requiere del uso de un solo canal de detección.

El desarrollo contó con el apoyo del Fondo Nacional de Desarrollo Productivo del Ministerio de Desarrollo Productivo de la Nación.

Para el desarrollo y elaboración del kit se recurrió a una cadena de proveedores nacionales, posibilitando la reducción de los costos de producción, promoviendo el fortalecimiento de las capacidades de la industria sanitaria nacional y contribuyendo a una mayor autonomía para asegurar el derecho a la salud. Esto además consolida a la firma y al país como jugadores activos en la economía del conocimiento a nivel internacional.

El kit **Schep SARS-CoV-2 RT-PCR Duo** está orientado a organizaciones del ámbito público, semipúblico, privado y del tercer sector, incluyendo ministerios, hospitales, obras sociales, laboratorios privados y fundaciones, para lograr un acceso rápido y a un costo significativamente menor que el de los kits que se encuentran actualmente disponibles. El kit será comercializado a un precio casi al costo de producción, para transformarlo en un insumo accesible a todas las instituciones de salud.

De esta manera, **Biocientífica S.A.**, empresa biotecnológica argentina con más de 35 años en el mercado de reactivos de diagnóstico, contribuye a la lucha contra la pandemia desde una perspectiva solidaria, en la que los argentinos podamos estar unidos para enfrentar los grandes desafíos.

>>> CONTACTO:

Tel.: (54 11) 4857 5005

Prensa: comunidad@biocientifica.com.ar

Ventas: ventas@biocientifica.com.ar

Soporte técnico:

technicalassistance@biocientifica.com.ar





Profesionalizar el manejo del paciente anticoagulado

>>> En septiembre comienza la segunda edición del Posgrado en Gestión Efectiva de la Clínica de Anticoagulación, en modalidad virtual este año y abierto a toda la comunidad.

>>> Se abre nuevamente este año la segunda edición del *Posgrado en Gestión Efectiva de la Clínica de Anticoagulación*, un programa educativo que cuenta con el apoyo de Roche, y el aval científico de la Universidad Católica Argentina (UCA).

La dirección del programa está a cargo del Dr. José Ceresetto y Dra. Cristina Duboscq y la coordinadora académica es la Dra. María Cristina Ferrari.

El programa comenzará el 18 de septiembre y finalizará el 30 de octubre. Las clases serán semanales, se dictarán de manera virtual y serán asincrónicas (se grabarán dando la flexibilidad de que puedan verlas/asistir fuera del horario mediante la plataforma virtual de UCA). Está dirigido a los profesionales de la salud que participan en el

monitoreo de los antagonistas de la vitamina k.

El posgrado cuenta con 6 módulos donde se incluyen temas como: el rol del laboratorio de hemostasia en el control del nivel de anticoagulación, la importancia de la Gestión de Calidad en la Salud, las herramientas para la educación del paciente anticoagulado, oportunidades en la transformación de una institución que realiza controles de anticoagulación, los desafíos prácticos en el manejo del paciente anticoagulado, la relevancia de AVK como motivo de consulta en emergencia y de toxicidad medicamentosa, entre otros puntos de interés.

El objetivo de este programa es brindar herramientas que permitan a los profesionales de la salud optimizar la atención a los pacientes anticoagulados, propiciando la toma de decisiones

oportunas y validadas clínicamente en todos los ámbitos de atención médica.

>>> **Datos de contacto**

Productos Roche S.A.Q. e I.
Rawson 3150 - Ricardo Rojas – Tigre, Buenos Aires -
Argentina

www.roche.com.ar

Seguinos en LinkedIn **Roche Argentina**



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**POSGRADO EN GESTIÓN EFECTIVA
DE LA CLÍNICA DE ANTICOAGULACIÓN**

Directores: **Dr. Jose Ceresetto y Dra. Cristina Duboscq**
Coordinadora académica: **Dra. María Cristina Ferrari**

Modalidad a distancia

DIRIGIDO A: **Profesionales de la salud** que participan en el monitoreo de los antagonistas de la **vitamina K**.

CONTENIDO ACADÉMICO

Indicación y uso de los distintos anticoagulantes

Antagonistas de la Vitamina K y manejo del paciente.
Inicio del tratamiento anticoagulante.
Tiempo en rango - Herramientas para su evaluación

Gestión del cambio. Medición RIN - Método tradicional y POC.
Importancia de los sistemas informáticos

Clínicas de anticoagulación: requisitos generales y específicos.
Modelo de gestión standard, manejo profesional ambulatorio y
manejo profesional institucional. Educación del paciente.
Indicadores de calidad.

INICIO: 18/09/2020

*Finalización: 30 de octubre 6 módulos académicos compuestos de encuentros a distancia en vivo y clases grabadas disponibles para el alumno en la plataforma digital.

Informes e inscripción: maria_c_ferrari@uca.edu.ar

Actividad arancelada



FORMACIÓN DE POSGRADO

>>> EDUCACIÓN A DISTANCIA

Actualización en Hemostasia y Coagulación

Inscripción: permanente

Organiza: UNL (Universidad Nacional del Litoral)

E-mail:

formacioncontinua@fbc.unl.edu.ar

Web: www.fbc.unl.edu.ar

Líquidos de punción: Laboratorio Bioquímico-clínico

Inscripción: Permanente

Organiza: UNL (Universidad Nacional del Litoral)

Lugar: Santa Fe, Argentina

Tel: 54-342-4575216 int. 122

E-mail:

formacioncontinua@fbc.unl.edu.ar

Web: www.fbc.unl.edu.ar

Monitoreo Terapéutico de drogas

Inscripción: Permanente

Organiza: UNL (Universidad Nacional del Litoral)

Lugar: Santa Fe, Argentina

E-mail:

formacioncontinua@fbc.unl.edu.ar

Web: www.fbc.unl.edu.ar/app/cursos

Bioquímica Clínica de los Líquidos y Electrolitos

Inscripción Permanente

Organiza: UNL (Universidad Nacional del Litoral)

E-mail:

formacioncontinua@fbc.unl.edu.ar

Web: www.fbc.unl.edu.ar/app/cursos

Especialización en Bioquímica Clínica en área de Microbiología

Modalidad: online

Organiza: Universidad Nacional de La Rioja

Email: posgrado.dacefyn@unlar.edu.ar

Temas de Perinatología

Modalidad: online

Organiza: Colegio Bioquímico de la Provincia de Córdoba

Email: cobico@cobico.com.ar

Laboratorio de Urgencias – Pautas de Gestión

Fecha: a definir

Modalidad: online

Organiza: Colegio Bioquímico de la Provincia de Córdoba

Email: cobico@cobico.com.ar

Bioquímica: Derechos del Paciente

Modalidad: online

Organiza: Colegio Bioquímico de la Provincia de Córdoba

Email: cobico@cobico.com.ar

BIOQUÍMICA FORENSE “EL ROL DEL BIOQUÍMICO FORENSE EN LA INVESTIGACIÓN CRIMINAL”

Fecha: 7 de septiembre

Modalidad: online

Organiza: ABA

Email: cursos@aba-online.org.ar

INMUNOLOGÍA - Histocompatibilidad

Fecha: 14 de septiembre

Modalidad: Online

Organiza: ABA

Email: cursos@aba-online.org.ar**El rol del Laboratorio en la Seguridad del paciente**

Fecha: 28 de septiembre

Modalidad: Online

Organiza: ABA

Email: cursos@aba-online.org.ar**Atención Bioquímica: el Nuevo Ejercicio Profesional**

Fecha: Octubre 2020

Modalidad: Online

Organiza UBA (Universidad de Buenos Aires)

Email: posgrado@ffyb.uba.ar**Fundamentos de qPCR y RT-qPCR y sus aplicaciones en ecología microbiana**

Fecha: Septiembre 2020

Modalidad: Online

Organiza Organizado por DiMAyA (División de Micro

Email: registro@aam.org.ar**>>> PRESENCIALES NACIONALES****ExpoMedical 2020**

Fecha: 2021

Lugar: El predio de exposiciones Centro Costa Salguero está ubicado en el barrio de Palermo de la Ciudad de Buenos Aires

Modalidad: **REPROGRAMADO 2021**Email: info@expomedical.com.ar

Tel: 4791-8001

Web: expomedical.com.ar**XXIV JORNADAS BIOQUÍMICAS del NOA**

Fecha: 2021

Lugar: La Rioja

Modalidad: **REPROGRAMADO 2021**Web: www.jornadasbioquimicasnoa.org

E-mail:

jornadasbioqNOA2020@gmail.com**CALILAB 2020**

Fecha: 2021

Lugar: Mar del Plata - Bs As

Modalidad: **REPROGRAMADA 2021**Web: www.calilab.fba.org.ar**>>> INTERNACIONALES****XXV IFCC-EFLM WorldLab-Euro Medlab Rome**

Fecha: 21 al 25 de mayo 2023

Lugar: Rome, Italia

BIOAGENDA // EMPRESAS

>>> AADEE S.A.

Av. Triunvirato 4135 5° Piso (1431)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Te: 54-11-4523-4848
Fax: 54-11-4523-2291
www.aadee.com.ar

>>> Abbott Laboratories Argentina S.A.

Ing. Butty 240, piso 12 (1001)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54 11) 5776 7311 / 7315
add_argentina_mkt@abbott.com
www.abbottdiagnostics.com

>>> Abbott Rapid Diagnostics

14 de Julio 616/628
Ciudad de Buenos Aires
Tel: 0800.555.9200
alere.ar@alere.com
www.alere.com

>>> Becton Dickinson Argentina S.R.L.

Av. Libertador 110 P.2 (1638)
Vicente Lopez, Buenos Aires
Tel: (54 11) 4718 7900 - 0800 444 55 BD (23)
crc_argentina@bd.com
www.bd.com

>>> Bernardo Lew e hijos SRL

info@bernardolew.com.ar
www.bernardolew.com.ar
Bahía Blanca: Perú 150 (8000)
Tel. (54 291) 455-1794
Fax. 54-291-451-4416
Buenos Aires:
Cbtes. Malvinas 3087 (1427)
Tel. (54 11) 4523-9901
Fax. (54 11) 4522-4322
Mendoza: Juan B. Justo 561 (5500)
Tel. (54 261) 425-2002
Fax. (54 261) 425-9966
Neuquén: Castelli 455 (8300)
Tel. (54 299) 442-9888
Fax. (54 299) 447-3556
Santa Rosa: Allem 705 (6300)
Tel/Fax. (54 2954) 41-0011
Trelew: Inmigrantes 557 (9100)
Tel. (54 2965) 42-9790

Fax. (54 2965) 43-4277

>>> B.G. Analizadores S.A.

Aráoz 86 (1414)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel. (54 11) 4856 2024 / 2876 / 5734
Fax/Cont: (54 11) 4856 5652
bga@bganalizadores.com.ar
www.bganalizadores.com.ar

>>> BIOARS S.A.

Estomba 961 (1427)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel./Fax (54 11) 4771-7676/ 3783
pl@bioars.com.ar
www.bioars.com.ar

>>> Biocientífica S.A.

Iturri 232 (1427)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54-11) 4857-5005
Fax: (54-11) 4857-1004
www.biocientifica.com.ar

>>> Biodiagnostico S.A.

Av. Ing. Huergo 1437, PB (1107)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel/fax: (54 11) 4300 9090
info@biodiagnostico.com.ar
www.biodiagnostico.com.ar

>>> Diagnos Med S.R.L.

Conesa 859 (1426)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54 11) 4552 2929
info@diagnosmed.com
www.diagnosmed.com

>>> ETC Internacional S.A.

Allende 3274 (1417)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54 11) 4639 3488 (líneas rotativas)
Fax: (54 11) 4639 6771
etcventa@etcint.com.ar
www.etcint.com.ar

>>> Gematec S.R.L.

Avalos 3651 (1605)
Munro - Buenos Aires
Tel: (54 11) 4794 7575 / 7676
Fax: (54 11) 4794 3184
info@gematec.com.ar
ventas@gematec.com.ar

>>> Genetrics S.A. - NextLAB

Av. del Libertador 8630 6to piso Of. 1 y 2 (1429
entrar así a baja cdad) - Ciudad de Buenos Aires
Tel. (54 11) 5263 0275 rotativo
E-mail: info@nextlab.com.ar
web: www.nextlab.com.ar

>>> GLYM SOFTWARE S.R.L

Piedras 519 - 8- A, Capital Federal, República
Argentina
Tel: Capital : +54 (011) 43314512 -- Mendoza + 54
(261) 4762331 - Córdoba +54 (351) 5685715 - Bahía
Blanca + 54 (291) 4851101
administracion@glyms.com

>>> JS Medicina Electrónica SRL

Bolivia 460 (1603)
Villa Martelli, Buenos Aires
Tel : 4709-7707 4709-7677 4709-1131
Fax: 4709-7707
info@jsweb.com.ar
www.jsweb.com.ar

>>> IACA LABORATORIOS

- San Martín 68, Galería Plaza (8000)
Bahía Blanca - Buenos Aires
Tel: (54 291) 459 9999
Fax: (54 291) 459 9996 / 8
- Suipacha 1322 PB "B"
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel/Fax: (54 11) 4327 2602 / 4326 1806
laboratorios@iaca.com.ar
www.iaca.com.ar

>>> Laboratorio de Medicina

Olaya 1644 (1414)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54 11) 4514 9370 al 76
info@labmedicina.com
www.labmedicina.com

>>> Laboratorio Bacon

Uruguay 136 (1603)
Villa Martelli, Buenos Aires
Tel: (54 11) 4709 0171

bacon@bacon.com.ar
www.bacon.com.ar

>>> MANLAB

Marcelo T. de Alvear 2263 (1122)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54 11) 6842 1200
derivaciones@manlab.com.ar
www.manlab.com.ar

>>> Meganalizar

Cede Laboratorio:
Montecaseros 2478 (5500) Mendoza
Tel. (54 261) 4373241/42
mega@analizar-lab.com.ar
Administración:
Belgrano 925 (5500) Mendoza
Tel. (54 261) 4236647/9125/9333
gerencia@abm.org.ar

>>> Montebio S.R.L.

Vera 575, Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel/fax: (54 11) 4858 0636
info@montebio.com.ar
www.montebio.com.ar

>>> Productos Roche S.A.Q.e I.

Rawson 3150
B1610BAL Ricardo Rojas
Buenos Aires, Argentina
argentina.diagnostics@roche.com
www.roche.com.ar

>>> Siemens Healthineers

Julián Segundo Agüero N° 2830 (1605)
Munro, Buenos Aires
Tel.: +54 11 5432 6000
siemenshealthineers.ar.team@siemens-healthineers.com
Web: siemens-healthineers.com/ar/
Twitter: @SiemensHealthES

>>> Stamboulían Laboratorio

Av. Scalabrini Ortiz 676 (1414)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Tel: (54 11) 4858-7000
laboratorio@stamboulían.com.ar
www.stamboulían.com.ar

>>> Avan

Padre M. Ashkar N°688 - (CP 1672) Gral San Martín,
Bs As - Argentina
Tel: (54 11) 47542168 rot - Wpp: +54 911 6228 4796
Web: www.avan.com.ar - info@avan.com.ar

>>> Proveedores generales por especialidades bioquímicas

Autoinmunidad

Abbott Rapid Diagnostics
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
Diagnos Med S.R.L.
ETC Internacional S.A.

Bacteriología

Abbott Rapid Diagnostics
Becton Dickinson Argentina S.R.L.
Biodiagnostico S.A.
Britania S.A.
ETC Internacional S.A.
Montebio S.R.L.
ONYVA SRL

Biología Celular

Becton Dickinson Argentina S.R.L.
BIOARS S.A.
Biocientífica S.A.
ETC Internacional S.A.
Montebio S.R.L.
Tecnolab s.a.

Biología Molecular

Abbott Rapid Diagnostics
Becton Dickinson Argentina S.R.L.
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
Diagnos Med S.R.L.
ETC Internacional S.A.
Laboratorios Bacon S.A.I.C.
Montebio S.R.L.
Siemens Healthcare
Tecnolab s.a.

Birología

B.G Analizadores S.A

Bromatología

Becton Dickinson Argentina S.R.L.
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
B.G Analizadores S.A

Clínica General

AADEE S.A.
Abbott Laboratories Argentina S.A.
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
Biodiagnostico S.A.
JS Medicina Electrónica SRL
Montebio S.R.L.
Roche Diagnostics Argentina
Siemens Healthcare

Cultivo Celular

Becton Dickinson Argentina S.R.L.
ETC Internacional S.A.

Endocrinología

AADEE S.A.
Abbott Laboratories Argentina S.A.
Abbott Rapid Diagnostics
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.
Biodiagnóstico S.A.
Diagnos Med S.R.L.
Laboratorios Bacon S.A.I.C.
Montebio S.R.L.
ONYVA SRL
Roche Diagnostics Argentina
Siemens Healthcare

Genética

Becton Dickinson Argentina S.R.L.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
Montebio S.R.L.
Tecnolab s.a.

Gas en sangre y electrolitos

B.G Analizadores S.A

Hematología

AADEE S.A.
Abbott Laboratories Argentina S.A.
Abbott Rapid Diagnostics
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
ETC Internacional S.A.
Gematec S.R.L.

Instrumental Bioquímico S.A.
Montebio S.R.L.

ONYVA SRL
Roche Diagnostics Argentina
Siemens Healthcare
Tecnolab s.a.

Histocompatibilidad

Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
B.G Analizadores S.A

Inmunología

Abbott Laboratories Argentina S.A.
Abbott Rapid Diagnostics
Becton Dickinson Argentina S.R.L.
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
Diagnos Med S.R.L.
Montebio S.R.L.
ONYVA SRL
Roche Diagnostics Argentina
Siemens Healthcare
Tecnolab s.a.

Marcadores Neoplásicos

Abbott Laboratories Argentina S.A.
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
Diagnos Med S.R.L.
Siemens Healthcare
Tecnolab s.a.

Micología

Becton Dickinson Argentina S.R.L.
Bernardo Lew e hijos S.R.L.
Biodiagnostico S.A.

Parasitología

Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.
Biocientífica S.A.
Biodiagnostico S.A.
ETC Internacional S.A.

Montebio S.R.L.

Tecnolab s.a.

Pediatría y Neonatología

AADEE S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

BIOARS S.A.

Biocientífica S.A.

Biodiagnostico S.A.

Diagnos Med S.R.L.

ETC Internacional S.A.

Laboratorios Bacon S.A.I.C.

Montebio S.R.L.

ONYVA SRL

Toxicología y Forense

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Biocientífica S.A.

Montebio S.R.L.

Tecnolab s.a.

Virología

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

BIOARS S.A.

Biocientífica S.A.

Biodiagnostico S.A.

ETC Internacional S.A.

Montebio S.R.L.

ONYVA SRL

Roche Diagnostics Argentina

Siemens Healthcare

Tecnolab s.a.

>>> Equipamiento e Insumos para Laboratorios

Acreditación de Laboratorios

Biodiagnostico S.A.

Agitadores

BIOARS S.A.

ETC Internacional S.A.

Instrumental Bioquímico S.A.

Aparatos de Medición

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

BIOARS S.A.

Laboratorios Bacon

Roche Diagnostics Argentina

Autoanalizadores

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

BIOARS S.A.

Biocientífica S.A.

Biodiagnostico S.A.

B.G Analizadores S.A.

JS Medicina Electrónica SRL

Montebio S.R.L.

Roche Diagnostics Argentina

Siemens Healthcare

Balanzas

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

ETC Internacional S.A.

Centrífugas

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

ETC Internacional S.A.

Citómetros

Abbott Rapid Diagnostics

Becton Dickinson Argentina S.R.L.

Cromatógrafos

Tecnolab s.a.

Coagulómetro

AADEE S.A.

BIOARS S.A.

Montebio S.R.L.

ONYVA SRL

ECLIA

Roche Diagnostics Argentina

Espectrofotómetros

BIOARS S.A.

Biodiagnostico S.A.

Montebio S.R.L.

Tecnolab s.a.

Gases en sangre y electrolitos

AADEE S.A.

Becton Dickinson Argentina S.R.L.

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

B.G Analizadores S.A.

Gematec S.R.L.

JS Medicina Electrónica SRL

Montebio S.R.L.

Roche Diagnostics Argentina

Siemens Healthcare

Insumos para Laboratorios

AADEE S.A.

Becton Dickinson Argentina S.R.L.

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

BIOARS S.A.

Biodiagnostico S.A.

Diagnos Med S.R.L.

ETC Internacional S.A.

Gematec S.R.L.

Montebio S.R.L.

Avan Tecnologías IVD

Laboratorio receptor de derivaciones

IACA LABORATORIOS

Laboratorio de Medicina (acreditado bajo Norma ISO 15.189)

MANLAB

Stamboulian Laboratorio (Laboratorio acreditado bajo la norma IRAM-NM-ISO 15189:2010 y el estándar MA2 de la Fundación Bioquímica)

Meganalizar

Laboratorio receptor de derivaciones en Biología Molecular

IACA LABORATORIOS

Laboratorio de Medicina (acreditado bajo Norma ISO 15.189)

MANLAB

(Acreditado en Biología Molecular en Fundación Bioquímica Argentina)

Stamboulian Laboratorio (Laboratorio acreditado bajo la norma IRAM-NM-ISO 15189:2010 y el estándar MA2 de la Fundación Bioquímica)

Laboratorio receptor de derivaciones en Inmunología

MANLAB

Meganalizar

Stamboulian Laboratorio (Laboratorio acreditado bajo la

norma IRAM-NM-ISO 15189:2010 y el estándar MA2 de la Fundación Bioquímica)

Laboratorio receptor de derivaciones en Inmunoserología

IACA LABORATORIOS

Laboratorio de Medicina (acreditado bajo Norma ISO 15.189)

MANLAB

Meganalizar

Stamboulian Laboratorio
(Laboratorio acreditado bajo la norma IRAM-NM-ISO 15189:2010 y el estándar MA2 de la Fundación Bioquímica)

Laboratorio receptor de derivaciones en Histocompatibilidad e Inmunogenética

MANLAB

(Laboratorio habilitado según Resolución N° 252-253/12 del INCUCAI, para la Tipificación de Receptores y Donantes para Trasplantes de Órganos)

Stamboulian Laboratorio
(Laboratorio acreditado bajo la norma IRAM-NM-ISO 15189:2010 y el estándar MA2 de la Fundación Bioquímica)

Laboratorio receptor de derivaciones en Medicina Genómica

MANLAB

(Acreditado en Biología Molecular en Fundación Bioquímica Argentina)

Stamboulian Laboratorio
(Laboratorio acreditado bajo la norma IRAM-NM-ISO 15189:2010 y el estándar MA2 de la Fundación Bioquímica)

Luminiscencia

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

Biodiagnostico S.A.

Diagnos Med S.R.L.

Siemens Healthcare

Material Descartable

Becton Dickinson Argentina S.R.L

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

ETC Internacional S.A.

Montebio S.R.L.

Material de Vidrio

Montebio S.R.L.

Material para Electroforesis

Bernardo Lew e hijos S.R.L.
BIOARS S.A.

Biodiagnostico S.A.

ETC Internacional S.A.

Tecnolab s.a.

MEIA

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Micropipetas

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

B.G Analizadores S.A

ETC Internacional S.A.

Montebio S.R.L.

Tecnolab s.a.

Genómica - Microarrays

Biocientífica S.A.

ETC Internacional S.A.

Quimioluminiscencia

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

Biodiagnostico S.A.

Montebio S.R.L.

Siemens Healthcare

Tecnolab s.a.

Reactivos

AADEE S.A.

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

B.G Analizadores S.A

BIOARS S.A.

Biocientífica S.A.

Biodiagnostico S.A.

Diagnos Med S.R.L.

ETC Internacional S.A.

Montebio S.R.L.

Roche Diagnostics Argentina

Siemens Healthcare

Tecnolab s.a.

RIA - IRMA

Diagnos Med S.R.L.

Montebio S.R.L.

Servicio Técnico

Abbott Rapid Diagnostics

BIOARS S.A.

Biodiagnostico S.A.

Instrumental Bioquímico S.A.

Montebio S.R.L.

Tecnolab s.a.

Software

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

BIOARS S.A.

Diagnos Med S.R.L.

Genetrics S.A. - NextLAB

Termocicladores

Biodiagnostico S.A.

Roche Diagnostics Argentina

GLYM SOFTWARE S.R.L

Avan Tecnologias IVD

Test Rápidos

Abbott Laboratories Argentina S.A.

Abbott Rapid Diagnostics

Bernardo Lew e hijos S.R.L.

B.G. Analizadores S.A

BIOARS S.A.

Biodiagnostico S.A.

ETC Internacional S.A.

Montebio S.R.L.

Siemens Healthcare

¡CHAU PAPEL!

Revista Bioanálisis se suma al cuidado del medio ambiente.
Sé parte de nuestra huella ecológica,
disfrutá la Revista desde cualquier plataforma digital.



Empezá a generar el cambio.

Revista

bioanálisis

www.revistabioanalisis.com

Revista

bioanálisis

DISFRUTÁ NUESTROS EJEMPLARES
DESDE CUALQUIER PLATAFORMA DIGITAL

Luego de realizar pruebas piloto con diversos métodos para obtener muestras de saliva, el que resultó más sencillo, higiénico, indoloro y confiable fue el reportado por E. Lorelius et al. (20) que consistió en dos torundas de algodón (hisopos) unidos, que se pasaban por la boca del lactante durante un minuto, con la inspección previa minuciosa de eventuales restos de leche y erosiones. Las muestras fueron enviadas inmediatamente al Laboratorio, donde fueron centrifugadas y congeladas a -20°C hasta el momento de su análisis. Para el análisis de cortisol, se utilizó el método de inmunoensayo, mediante electroquimioluminiscencia, equipo Roche Cobas e601. Coeficiente de variación interensayo del 6%.

Análisis estadístico

Cálculo de tamaño muestral: Asumiendo errores α 0,05 y β 0,8, para estimar la media aritmética de cortisol salival en los niños de 0 a 12 meses y teniendo en cuenta la ecuación $4Z^2S^2/W^2$, en la que $Z_{\alpha} = 1,96$ (intervalo de confianza (IC) del 95%), S (desvío estándar) = 7 nmol/l, W (precisión estimada) = 3, el tamaño muestral mínimo fue 84 individuos (21). Se le sumó un 10% por aquellas

Estudio a Docencia e Investigación del Comité de Ética (15/12/16) del Hospital Pirovano. Dispositivo adhirió a la convención de modificaciones de la Ley Nacional 253 Personal (Hal... Establecimiento in... le

Análisis p...

Un t... con a... marzo... excluidos... trición; 6, por... de drogas ilícitas... pretérmino y/o te... gestacional, y 7 se

<https://issuu.com/revista-bioanalisis>