

Revista

**bio**análisis

www.revistabioanálisis.com

Año 17 - N° 110

Febrero 2021

# Efecto de la borra de café sobre la biológica espermática: aproximación in vitro

Niveles de Anticuerpos Antirreceptor de Fosfolipasa A2 en Pacientes con Nefropatía Membranosa y Síndrome Nefrótico

Importancia de los niveles de Dímero D en Covid-19

Hiperpigmentación cutánea secundaria a déficit de vitamina B12 en un lactante



# Roche *Digital Diagnostics*

Transformando información en resultados significativos

Lanzamos un nuevo portafolio de soluciones digitales personalizadas, diseñadas para transformar información en resultados significativos.

Esta amplia gama de soluciones innovadoras permitirá a los laboratorios y a los diferentes actores del sistema de salud impulsar el futuro de la prestación de atención médica.

 **cobas® infinity  
lab solution**

 **cobas® infinity  
POC solution**

 **VANTAGE  
workflow solution**

 **Roche Inventory  
Solution**

 **VIEWICS  
LabOPS™**

 **VIEWICS  
Dx Optimization™**

 **Roche Remote  
CareGiver**



Cada solución digital que forma parte de Roche Digital Diagnostics podrá ayudar a los profesionales de la salud a transformar la información en resultados significativos. Esto les permite redefinir su rol, reforzar su valor y lograr su visión con confianza.

*Uso profesional exclusivo*

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

[argentina.diagnostics@roche.com](mailto:argentina.diagnostics@roche.com)

[roche.com.ar](http://roche.com.ar)

Linked  Roche Argentina




**NextLAB<sup>®</sup>** <sup>10</sup>  
 ELEVA 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 esta nueva edición de Revista Bioanálisis les presentamos una investigación sobre el efecto de la borra de café sobre la movilidad y los parámetros funcionales de los espermatozoides humanos in vitro. Laboratorios MANLAB nos acerca una interesante revisión sobre la importancia de los niveles de Dímero D en Covid-19. También encontrarán un trabajo sobre niveles de Anticuerpos Antireceptor de Fosfolipasa A2 en pacientes con nefropatía membranosa.

La nefropatía membranosa primaria es uno de los fenotipos histológicos e inmunohistoquímicos más frecuentes en los pacientes adultos con síndrome nefrótico, por lo que es de suma importancia la posible asociación de dichos anticuerpos en esta patología. En el área de biología molecular una investigación sobre la clonación de secuencias de plasmodium para su uso como control en el diagnóstico de la malaria. Un caso clínico de hiperpigmentación cutánea secundaria a déficit de vitamina B12 en un lactante es otro de los temas abordados en nuestra revista número 110.

Sin duda tenemos por delante otro año de grandes desafíos y estaremos ahí para seguir acompañándolos mes a mes.

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

Efecto de la borra de café sobre la biológica espermática: aproximación in vitro

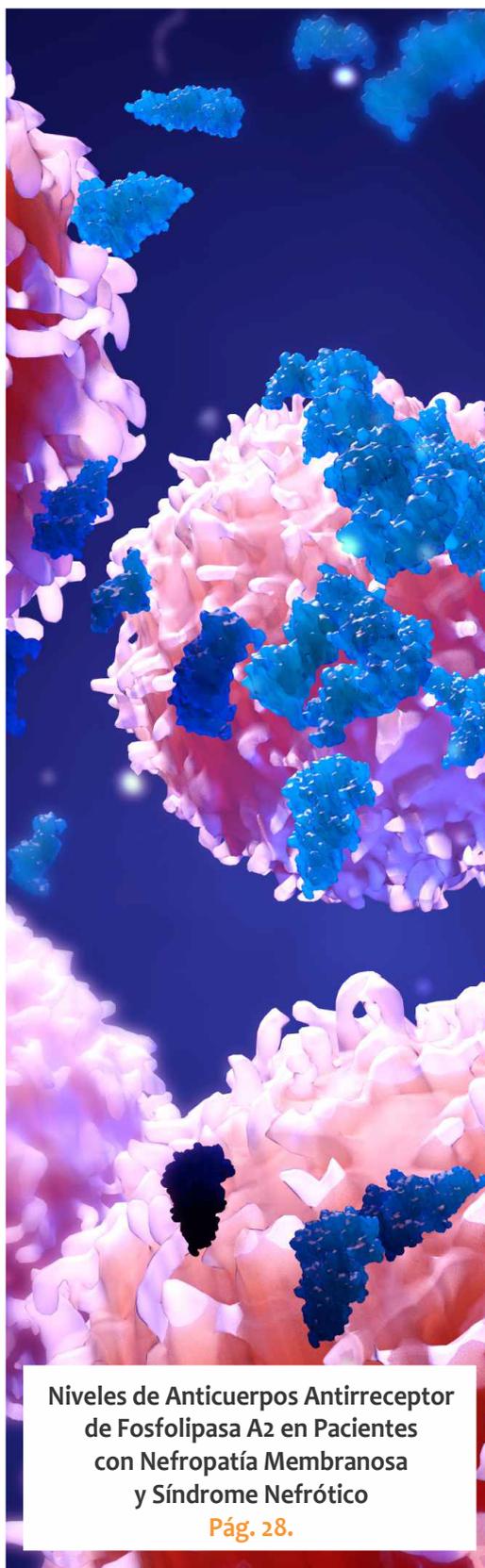
Pág. 8.



>> Pág. 50 Clonación de secuencias de *plasmodium* para su uso como controles en el diagnóstico molecular

Formación de Posgrado. Pág 64 <<

BioAgenda // Empresas. Pág 66 <<



## 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.



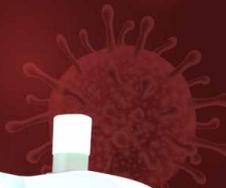
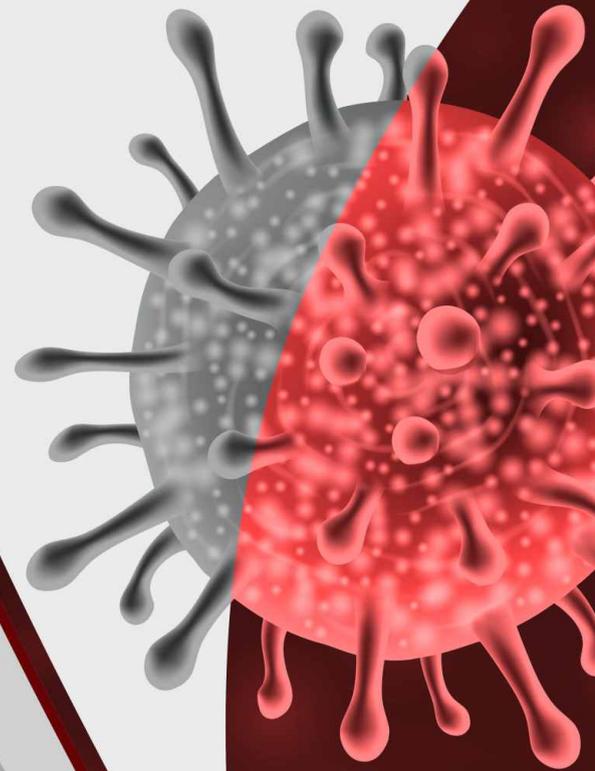
AMPLIFICACIÓN DEL GEN E (PAN-  
SARBEVIRUS), REGIÓN ORF 1/A  
(SARS-COV-2) Y CONTROL INTERNO.



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<sup>®</sup>**

**Diagnóstico Bioquímico y Genómico**

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

 /LaboratorioMANLAB |  @laboratoriomanlab



## Efecto de la borra de café sobre la biológica espermática: aproximación in vitro

>>> En el siguiente trabajo se busca establecer los efectos que tiene la borra de café sobre la calidad seminal, determinando in vitro los cambios que esta puede generar sobre la movilidad y los parámetros funcionales de los espermatozoides humanos.

### >>> AUTORES

Brayan Alexander Rojas Mesa, Walter D. Cardona Maya.

Grupo Reproducción, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

### >>> RESUMEN

**Objetivo:** El objetivo de este trabajo fue establecer el efecto de la borra de café sobre la movilidad y los parámetros funcionales de los espermatozoides humanos in vitro.

**Materiales y métodos:** La borra de café, un subproducto obtenido en establecimientos especializados en la preparación de café soluble a base de grano, se diluyó en tampón fosfato salino y se mez-

cló en proporciones iguales con las muestras de semen de 16 voluntarios aparentemente sanos. A cada muestra se le determinó el efecto sobre la movilidad espermática en función del tiempo (30, 60, 90 y 120 minutos, n=16) y sobre los parámetros funcionales (n=6) por medio de citometría de flujo: potencial de membrana mitocondrial, producción de especies reactivas de oxígeno y lipoperoxidación de la membrana espermática.

**Resultados:** La incubación de los espermatozoides con la borra de café evidenció un cambio positivo en la movilidad espermática. Adicionalmente, la incubación con la borra de café incremento significativamente el potencial de membrana mitocondrial en los espermatozoides.

**Conclusión:** La borra de café, seguramente debido a los compuestos antioxidantes, afecta positiva-

# 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 Genetrics 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](mailto:info@nextlab.com.ar)

mente la movilidad espermática aumentando el potencial de membrana mitocondrial. Por lo tanto, esto es un paso inicial en la búsqueda de un suplemento de origen natural que aumente la calidad seminal.

**Palabras claves:** Borra de café, antioxidante, espermatozoides, fertilidad, semen.

## >>> INTRODUCCIÓN

El café es un producto agrícola con importancia económica para muchos países, es así como para finales de 2018 se exportaron en el mundo más de 10 millones de sacos de café siendo Brasil, Colombia y Vietnam los tres principales exportadores (1). Esta alta exportación ratifica que la compra de café, con el propósito de ser usado como una bebida preparada mediante infusión a partir del fruto de los cafetos, se ha convertido en un elemento indispensable de la canasta familiar (2,3).

El fruto de café pertenece a la familia de las rubiáceas de las cuales existen 500 géneros y más de 6000 especies (el arábigo, la robusta, el liberiano y el excelso entre otras) (4), siendo las especies más importantes comercialmente el arábigo y la robusta. Todas las especies de café se caracterizan por tener más de 1000 sustancias químicas, incluyendo: carbohidratos, lípidos, compuestos nitrogenados, vitaminas, minerales, alcaloides además de compuestos fenólicos (3,5,6).

La robusta se caracteriza por tener el fruto de mayor concentración de cafeína, mientras que el fruto de la arábica presenta mayor producción y consumo en el mundo debido seguramente al aroma y suave sabor al paladar; sin ningún tratamiento el grano de café arábigo posee una concentración de cafeína relativamente bajo, entre 0,6 y 1,7%<sup>6</sup>.

Durante la producción las semillas de café pasan por diferentes procesos de madurez, lavado, almacenamiento, selección y tostación antes de llegar a su presentación final como bebida. El proceso de tostación es fundamental y se basa en la transformación de los granos de café mediante

la aplicación de calor generando cambios en el color, la forma, el volumen, la masa, la humedad y la densidad del grano induciendo variabilidad en las concentraciones de ácidos, proteínas, azúcares e incluso cafeína (7), modificando el olor y el sabor final del producto. En la industria cafetera uno de los residuos de mayor producción es la borra de café, representa el 10% del peso neto del café cosechado, contiene importantes cantidades de compuestos orgánicos como ácidos grasos, lignina, celulosa, hemicelulosa e incluso polisacáridos los cuales podrían explotarse como fuente de productos de valor agregado, incluyendo compostaje (8,9), producción de biodiesel, como fuente de azúcares, precursor para la producción de carbón, e incluso como bioabsorbentes de iones metálicos (10).

El compuesto más importante y reconocido del café es la cafeína, un estimulante del sistema nervioso central (SNC), con capacidad para aumentar las concentraciones de calcitonina, relajar los músculos lisos y estimular la frecuencia cardíaca<sup>11</sup>; una ingesta moderada de 400 mg/día de cafeína no se asocia con ningún efecto adverso para la salud(12), solo las mujeres en edad reproductiva y los niños deberían tener restricciones para su consumo debido a que existe evidencia que demuestra que la ingesta de cafeína durante el primer trimestre del embarazo incrementa el riesgo de aborto espontáneo (12,13).

Durante los últimos 50 años el consumo de café se ha relacionado con diversos ámbitos de la salud debido a la popularidad y a los beneficios de su consumo, los efectos que puede generar en las personas que lo consumen constantemente se han asociado con la prevención de la diabetes mellitus tipo 2 (Dm2) (14,15) y el riesgo cardiovascular (16, 17). Sin embargo, el consumo de café moderado o alto se ha relacionado con un mayor riesgo de padecer carcinoma renal (18,19). En enfermedades como el Parkinson una taza de café al día se encuentra asociada a una reducción del 10% de riesgo a padecerla (20) y con respecto a la obesidad los extractos de café verde sugieren un beneficio al ser utilizados como suplementos para la reducción del peso (21,22).

Estos estudios que relacionan el café y la

cafeína con afecciones como las enfermedades cardiovasculares (23,25) , la Dm2 (26, 27) y el cáncer (28) presentan resultados contradictorios (5,29) debido principalmente al tipo de café utilizado, además el consumo de café está estrechamente relacionado con otros factores de riesgo para estas enfermedades como el consumo de cigarrillo (18,20,30), la ingesta de alcohol (30) y el sedentarismo (31).

Desde otra perspectiva, durante los tratamientos de reproducción asistida en un estudio realizado sobre el impacto que genera la ingesta de café diaria en las mujeres danesas durante sus tratamientos de fertilidad, se demostró que entre una y cinco tazas de café por día, aumentan las probabilidades de obtener una resolución exitosa (32) y en el ámbito de la fertilidad masculina se evidencio que el consumo de más de 272 mg/día, está asociado a una menor probabilidad de concebir un bebe vivo (33). En contraste, existe evidencia sobre el efecto negativo del consumo de

café sobre la fertilidad masculina (34) dada la característica que posee la cafeína de difundirse libremente en el ovario y los testículos humanos, esta propiedad fue descrita por Goldstein y Warren al evaluar testículos de pacientes sometidos a orquiectomía bilateral a causa del cáncer de próstata, a estos se les administró 1 g de benzoato sódico de cafeína 30 minutos antes del procedimiento quirúrgico, lo que posteriormente en la evaluación de los testículos mostró que la cafeína tiene acceso a las gónadas adultas y que logra en estos tejidos concentraciones similares a las del plasma (35).

De otro lado, el estrés oxidativo es un fenómeno que se desarrolla cuando la cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS) sobrepasa el balance entre la producción y capacitación generando consecuencias negativas en los procesos celulares (36), en los espermatozoides la producción de ROS se correlaciona negativamente con su calidad fisiológica, la formación de los ROS se

## 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](http://www.iaca.com.ar)



IRAM  
GESTIÓN DE LA CALIDAD  
R.1. 9000-462  
Norma IRAM - ISO 9001:2015

ha relacionado con la infertilidad, un estudio realizado en hombres infértiles ha evidenciado la existencia de una mayor cantidad de ROS en estos pacientes en comparación con hombres fértiles (37), en adición a estos resultados otras investigaciones han determinado que los pacientes y donantes con parámetros normales en la movilidad espermática tienen una menor formación de ROS respecto a los que presentaban una movilidad espermática anormal (38), sin embargo niveles bajos de especies reactivas de oxígeno, son necesarias para el proceso de capacitación y fecundación (39).

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue establecer los efectos que tiene la borra de café sobre la calidad seminal, determinando *in vitro* los cambios que esta puede generar sobre la movilidad y los parámetros funcionales de los espermatozoides humanos.

## >>> MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras seminales

Se incluyeron 16 muestras de semen de voluntarios aparentemente sanos con una edad promedio de 24 años (20 a 28 años), sin hijos, con parámetros seminales normales y que no fumaran, la muestra seminal fue recolectada mediante masturbación después de un periodo de abstinencia sexual de 2 a 5 días y se evaluaron en un máximo de 2 horas después de su recolección (40). Cada individuo firmó un consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética, Facultad de Medicina, de la Universidad de Antioquia, después de leer y entender el propósito de la investigación.

A cada muestra de semen se le realizó la cuantificación de la movilidad por medio de microscopía a partir del lineamiento establecido por el manual de análisis seminal de la Organización Mundial de la Salud (OMS): movilidad tipo I (progresiva), movilidad tipo II (no progresiva), movilidad total (I+II) y movilidad tipo III (espermatozoides inmóviles).

### Incubación directa de los espermatozoides y la dilución de la borra de café en PBS

En viales de 1.5 mL se realizó una dilución de los residuos del café seco (borra de café) con tampón fosfato salino (PBS, Gibco, Grand Island, NY, EE. UU.) a una concentración de 1.5 mg/mL. Se preparó una solución madre con el propósito de realizar todos los ensayos con similares condiciones y por lo tanto evitar alguna posible variación en la borra según la preparación o la temporada de preparación. Se preparó una dilución 1:2 de la muestra seminal con la borra de café y como control negativo la muestra de semen fue diluida 1:2 con PBS, se incubaron durante 2 horas a 37°C, cada 30 minutos se cuantificó al microscopio la movilidad espermática por duplicado.

### Evaluación de las propiedades funcionales de los espermatozoides

Aproximadamente  $1 \times 10^6$  espermatozoides fueron incubados con borra de café y PBS durante 60 minutos a una temperatura de 37 °C, con el propósito de determinar los parámetros funcionales espermáticos mediante citometría de flujo: potencial de membrana mitocondrial, producción de especies reactivas de oxígeno y lipoperoxidación de la membrana celular.

### Evaluación de potencial de membrana mitocondrial (PMM)

Se evaluó usando la tinción con yoduro de 3,3'-di-hexiloxacarbocianina (DiOC6, Molecular Probes Inc., Países Bajos), un colorante lipofílico, catiónico y selectivo para mitocondrias de células vivas, este se caracteriza por mostrar el estado del potencial de la membrana mitocondrial. El yoduro de propidio (IP, Molecular Probes Inc., Países Bajos) se utilizó como tinción para discriminar los espermatozoides necróticos/muertos (37, 41). Los datos fueron analizados como el porcentaje de espermatozoides vivos con alto y bajo PMM y de espermatozoides necróticos/muertos.

### Evaluación de especies reactivas de oxígeno (ROS)

Se evaluaron midiendo los niveles intracelulares de ROS (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HO-ONNOO-) espermáticos, utilizando 2',7'-diclorofluoresceína diacetato (DCFH-DA) con IP para excluir los esperma-



## 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](http://www.oaa.org.ar)



RIQAS



PLANTA DE LABORATORIO  
Av. Scalabrini Ortiz 676

DPTO. COMERCIAL  
4858-7061 al 63  
[laboratorio@stamboulian.com.ar](mailto:laboratorio@stamboulian.com.ar)

2206-6000

[WWW.STAMBOULIAN.COM.AR](http://WWW.STAMBOULIAN.COM.AR)

STAMBOULIAN  
SERVICIOS DE SALUD

tozoides necróticos/muertos. Los resultados se expresaron como el porcentaje de espermatozoides negativos para IP y positivos para DCFH-DA molécula de señal permeable no fluorescente, altamente sensible a cambios de oxidación/ reducción (41).

### Evaluación de lipoperoxidación de la membrana celular (LIPOPX)

Para evaluar el estado de lipoperoxidación de la membrana celular espermática se usó el colorante BODIPY (581/591) C11 (Molecular Probes Inc., Países Bajos) de acuerdo con el método propuesto por Aitken *et al.* (42). Los resultados se expresan como el porcentaje de espermatozoides que exhiben la respuesta de fluorescencia verde.

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo determinando los valores de media y rango de la movilidad espermática evaluada cada 30 minutos durante las 2 horas de incubación a las que se expusieron los espermatozoides a la borra de café. Los resultados de citometría de flujo fueron analizados mediante el programa FlowJo (TreeStar, Inc. Oregon, USA). Adicionalmente, se realizó una prueba Wilcoxon para la comparación de los grupos, todas las determinaciones se realizaron mediante el programa estadístico GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.) y se consideró un nivel mínimo de significancia del 95%, valor *p* de 0.05.

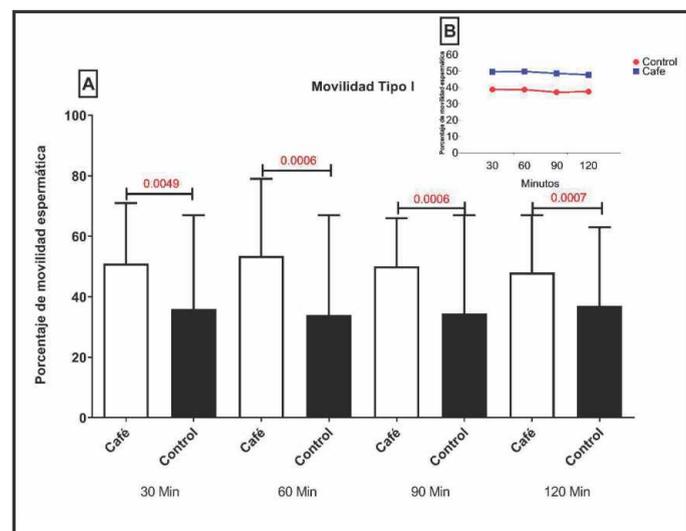
## >>> RESULTADOS

El análisis del efecto de la borra de café sobre los espermatozoides, fueron divididos según el tipo de movilidad I (progresiva), II (no progresiva), I+II (movilidad total) y III (inmóviles), se compararon en función del tiempo con respecto al control negativo.

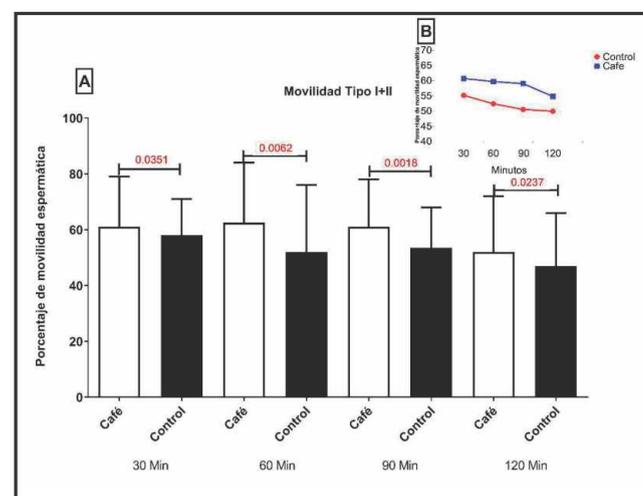
Se observaron cambios significativos en la movilidad tipo I, I+II y III, en los cuales se presenta una disminución de la movilidad en muestras que fueron incubadas sin el estímulo desde los 30 minutos y un aumento de la movilidad en las

muestras incubadas con la borra de café (Figura 1 A-B y Figura 2 A-B). El mayor efecto de la borra de café sobre la movilidad tipo I de los espermatozoides se observó entre los 60 ( $49,81 \pm 16,51$ ) y 90 minutos ( $48,63 \pm 12,97$ ) post incubación (Tabla 1), en contraste, la muestra control desde los 30 minutos ( $38,8 \pm 14,98$ ) evidencia un descenso en la movilidad espermática, esta tendencia se manifestó de forma significativa entre el control y la borra de café en los mismos tiempos para la movilidad total y para los espermatozoides inmóviles (Tabla 1).

>> **Figura 1.** Movilidad espermática tipo I. A. Evaluación del efecto de la borra de café (1.5 mg/mL) en proporción 1:2 sobre la movilidad espermática tipo I en función del tiempo (30, 60, 90 y 120 minutos). B. Consolidado de los resultados.



>> **Figura 2.** Movilidad espermática total. A. Resultados del efecto de la borra de café (1.5 mg/mL) en proporción 1:2 sobre la movilidad espermática total en función del tiempo (30, 60, 90 y 120 minutos). B. Consolidado de los resultados.

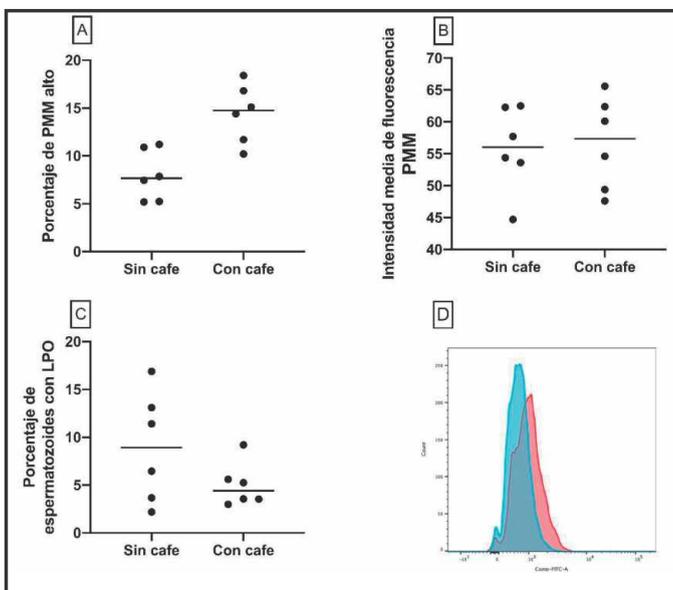


>>> **Tabla 1.** Valores consolidados para la movilidad espermática. Evaluación en porcentaje de la movilidad tipo I, I+II y III de los espermatozoides incubados con la borra de café (1.5 mg/mL) en función del tiempo.

		Movilidad I													
		30 minutos		60 minutos		90 minutos		120 minutos							
Media	DS	Borra	Control	Borra	Control	Borra	Control	Borra	Control						
		49,53	38,8	49,81	38,69	48,63	37,06	47,73	37,47	15,04	14,98	16,51	15,97	12,97	14,8
		Movilidad I+II													
Media	DS	60,67	55,13	59,69	52,38	59	50,5	54,8	49,93						
		10,85	10,28	12,68	13,68	9,338	13,4	11,39	11,49						
		Movilidad III													
Media	DS	38,87	44,4	39,38	47,19	40,25	48,94	43,67	49,53						
		10,97	10,38	12,79	13,64	9,518	13,55	11,13	11,53						

La borra de café incremento el potencial de membrana mitocondrial (14.4%) respecto a la muestra sin estímulo (7.9%,  $p=0,03$ , Figura 3A), no obstante, no se encontró una diferencia significativa en los valores de intensidad media de fluorescencia entre estas poblaciones (Figura 3B).

>>> **Figura 3.** Pruebas espermáticas funcionales. Evaluación del porcentaje de células con potencial de membrana mitocondrial alto (PMM, A,  $p=0,03$ ) e intensidad media de fluorescencia (B,  $p>0,05$ ). Distribución (C) e histograma representativo (D) del porcentaje de espermatozoides positivos para la lipoperoxidación de la membrana espermática ( $p>0,05$ ).



Al evaluar la producción de ROS de las muestras seminales no se observaron diferencias significativas al comparar los valores obtenidos

para las muestras con el estímulo en contraposición a aquellas que no lo tenían ( $p>0,05$ , Figura 3C).

Finalmente, el estado de la lipoperoxidación de la membrana espermática no evidenció alteración en las muestras con el estímulo y aunque la diferencia con respecto al grupo control es estadísticamente no significativo ( $p>0,05$ ), las muestras con el estímulo si mostraron un menor porcentaje (Figura 3C) de espermatozoides con lipoperoxidación de la membrana y una menor intensidad media de fluorescencia (Figura 3D).

## >>> DISCUSIÓN

En el presente estudio, se realizó la evaluación *in vitro* del efecto de la borra de café sobre la biología espermática, los hallazgos de este estudio evidencian que la borra de café (1.5 mg/mL) afecta positivamente la movilidad.

La borra de café contiene niveles de cafeína variables (arábica (0.5%) o robusta (0.2%))<sup>10</sup>, existen estudios en los cuales se evidencia que la administración oral de 5 mg/kg o 300 mg de cafeína induce una concentración plasmática de 10 µg/mL (43,44), otros demuestran que el consumo diario de 240-300 mg de cafeína es equivalente a la ingesta de 3-7 mg de cafeína/kg de peso corporal en un adulto (45), Beach *et al.*, evaluaron la capacidad que tiene la cafeína de excretarse en el semen, comparándolo con las concentraciones de cafeína en sangre, evidenciando que la cafeína puede equilibrar su concentración entre la sangre y los órganos accesorios de la reproducción logrando así ser secretada en el eyaculado, a su vez determinaron que una dosis de hasta 400 mg de cafeína no afectan la concentración, ni el volumen espermático (46), el consumo de café/te durante las últimas 24 horas antes de la eyaculación en 209 pacientes evidenció como resultado más significativo la disminución en la fragmentación de ADN espermático (47), además estudios *in vitro* en muestras seminales de jabalí congelados y descongelados por cafeína y adenosina, demostraron que la cafeína incrementa la incidencia de penetración al oocito, también se evidenció que la cafeína logra un efecto mucho mayor en la capacitación de los espermatozoides y permitió la reacción

acrosómica espontánea (48).

La cafeína es un compuesto que se encuentra además del café, en el té, las bebidas carbonatadas, medicamentos no prescritos y otros alimentos (cacao, helado y tortas). La cafeína cruza con facilidad las membranas biológicas (gastrointestinal, hematoencefálica y placentaria) lo que le permite distribuirse rápidamente por todo el cuerpo (49), además cuenta con la capacidad de hidrolizar las grasas logrando producir ácidos grasos libres y de inhibir la lipoperoxidación que se da por medio de los radicales hidroxilo (OH), peróxidos (ROO) y moléculas de oxígeno en estado de excitación (oxígeno singlete) (49, 52). El café también cuenta con componentes como el ácido clorogénico el cual se encuentra conformando entre 70-350 mg de una taza de café de 200 mL de los cuales son absorbidos en el intestino alrededor del 33% (53,54), este compuesto cuenta con gran capacidad antioxidante en todas las presentaciones de producción como el café verde, tostado y subproductos relacionados (pulpa, mucilago, pergamino y borra) (54).

La borra se obtiene a partir de la preparación del café soluble y representa la parte insoluble del grano de café tostado que en la actualidad se presenta como un problema de contaminación para la industria cafetera difícil de ser degradado y que necesita de mucho tiempo para ser eliminado parcialmente por la acción microbiana (55), por esta razón se han estudiado posibilidades en la utilización de la borra de café para la producción de biocombustibles, de proteínas y hongos comestibles, además de variables como medio para la elaboración de papel (55) y basados en los resultados de este estudio como un activador de espermatozoides humanos.

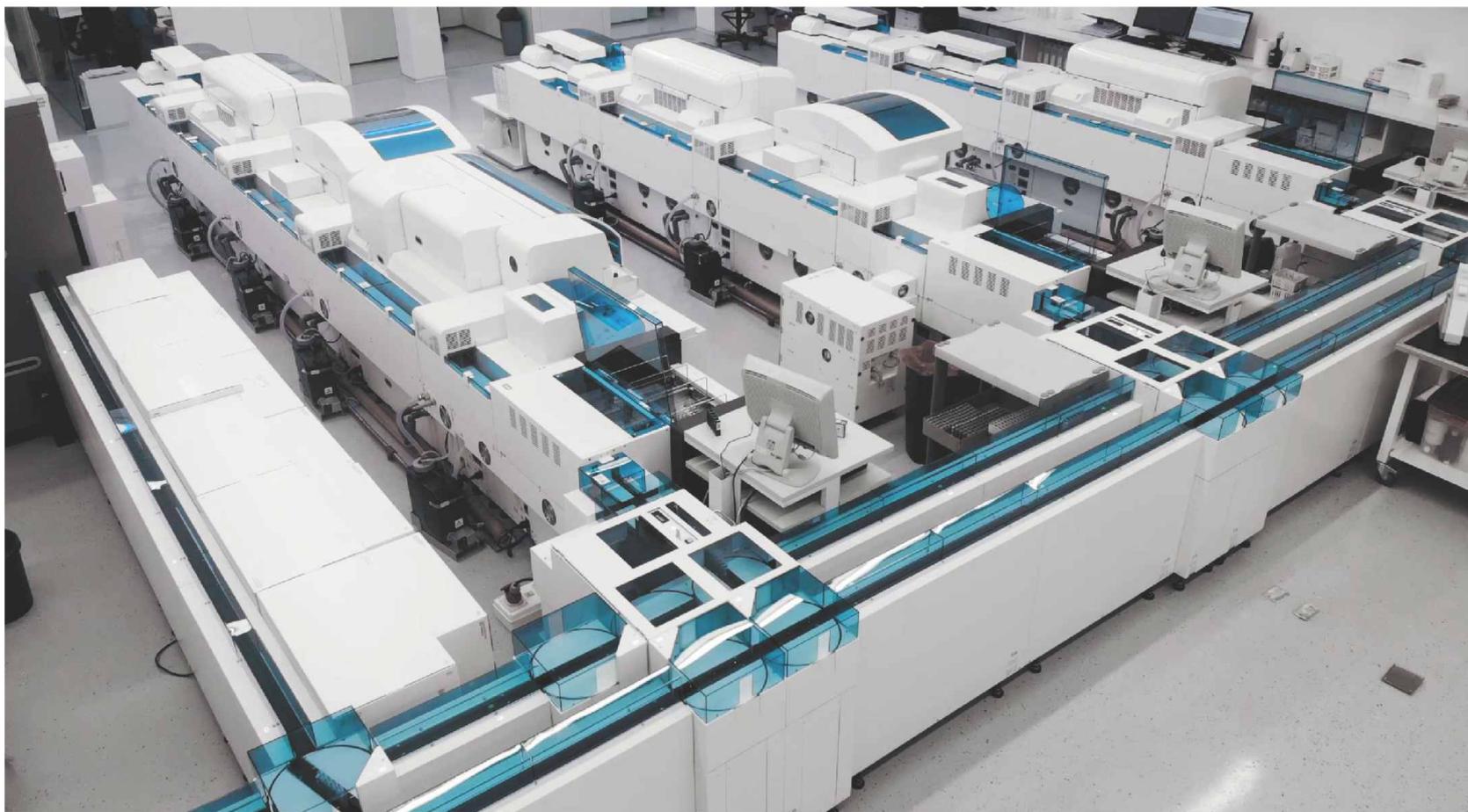
En cuanto a utilidades dirigidas al ámbito de la salud no existe evidencia científica que muestre la implementación de la borra de café, sin embargo, investigadores como Félix O *et al.*, han demostrado al valorar la actividad antioxidante y el contenido de metabolitos antioxidantes en muestras de café pergamino tipo Arábica, que en el proceso de tostación de grado medio se da un aumento en el contenido de metabolitos secunda-

rios como fenoles y flavonoides, además de aumentar la actividad antioxidante (56), con esta misma idea Fonseca García L *et al.* al evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales en café y subproductos del mismo, han obteniendo en muestras comerciales y muestras sin tostar registros positivos de fenoles totales y capacidad antioxidante (57), así mismo en un estudio publicado en 2013 en el cual se buscaba recuperar antioxidantes naturales de la borra de café, se determinó que todos los residuos recolectados mostraban grandes cantidades de fenoles totales y una alta capacidad antioxidante en extractos que usaron como disolvente el etanol (58), por el contrario, el incremento de la temperatura y el tiempo por encima del grado medio en el proceso de tostión genera un efecto negativo sobre la actividad antioxidante, esto se evidenció en la demostración de Bernard A. Goodman *et al.*, el cual expone el café instantáneo a unas temperaturas de 27-77 °C otorgándole características prooxidantes que le permiten comportarse como fuente de radicales libres para la molécula de ácido ascórbico (59).

Los cambios significativos observados en el presente estudio sobre la movilidad espermática pueden obedecer a la existencia de concentraciones altas de antioxidantes en la borra de café, según el estudio realizado por B. Rodríguez-Alonso *et al.*, sobre 78 muestras seminales evidenció que en todas aquellas que contenían un nivel elevado de estrés oxidativo se presentó un incremento en la fragmentación del ADN espermático con una progresión de 2.5% por cada hora transcurrida en comparación con las muestras que tenían una estabilidad en la fragmentación del ADN (60), el estrés oxidativo altera la capacidad fecundante, y los antioxidantes contrarrestan el efecto nocivo de los radicales (61).

El estrés oxidativo se genera cuando los niveles de ROS exceden la capacidad antioxidante, aunque las ROS tienen un papel primordial durante una serie de eventos espermáticos, su aumento afecta la calidad seminal, causando infertilidad (36,62,63). El aumento del estrés oxidativo resulta en la alteración de las características espermáticas al inducir la peroxidación lipídica de la membrana plasmática de los espermatozoides,

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](http://www.oaa.org.ar)

 (+011) 154 092 2001  (+011) 5263 9911  [info@labmedicina.com](mailto:info@labmedicina.com) [labmedicina.com](http://labmedicina.com)

la oxidación de espermatozoides cruciales proteínas y fragmentación del ADN espermático, lo que lleva a la infertilidad masculina (64-66).

Reciente dos trabajos publicados por dos de los grupos más prestigiosos en los antioxidantes y la fertilidad (67,68), confirman el papel importante que juegan los antioxidantes. El profesor Aitken (67) reafirma la importancia de controlar el estrés oxidativo en múltiples eventos, incluso algunos de estilo de vida modificables, lo cual permitir repercutir positivamente sobre la calidad seminal, mientras que el otro grupo demuestra que el tratamiento con antioxidantes durante tres meses mejora la calidad seminal, parámetros convencionales y funcionales, en hombres con infertilidad idiopática (68).

Finalmente, en los espermatozoides las mitocondrias son orgánulos de mucha importancia, tienen como función principal el producir ATP (69), daños en su estructura se relacionan con una disminución drástica de la movilidad espermática (70), algunos de estos daños se relacionan con la producción de ROS (71), en el presente estudio se observó que los espermatozoides que se encontraban con el estímulo de la borra de café presentaron un mayor PMM lo que sugiere que los extractos de borra de café generan una mayor actividad mitocondrial esto viéndose reflejado en el aumento de la movilidad espermática tipo I y I+.

## >>> CONCLUSIONES

La borra de café, seguramente debido a los compuestos antioxidantes, afecta positivamente la movilidad espermática aumentando el potencial de membrana mitocondrial. Por lo tanto, esto es un paso inicial en la búsqueda de un suplemento de origen natural que aumente la calidad seminal *in vitro*.

## >>> REFERENCIAS

1. Organization IC. Coffee Market Report 2019.
2. Belitz H, Grosch W, Schieberle P. Food chemistry. 2009. Milk and Dairy Products:498-545.
3. Gotteland M, de Pablo V S. Algunas verdades sobre el café. Revista chilena de nutrición 2007;34:105-15.
4. Figueroa-Hernández E, PÉREZ-SOTO F, GODÍNEZ-MONTOYA L. La producción y el consumo del café. ECORFAN Madrid, España 2015.

5. Higdon JV, Frei B. Coffee and health: a review of recent human research. Critical reviews in food science and nutrition 2006;46:101-23.
6. Spiller MA. The chemical components of coffee. Caffeine 1998;1998:97-161.
7. Rivera Serna JS. Estudio de la influencia del método de Tostión en la calidad sensorial del café: Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá; 2017.
8. RODRIGUEZ N, Zambrano D. Los subproductos del café: fuente de energía renovable 2013. Report No.: 0120-0178.
9. Gonzalez LVP, Gómez SPM, Abad PAG. Aprovechamiento de residuos agroindustriales en Colombia. RIAA 2017;8:141-50.
10. Campos-Vega R, Loarca-Pina G, Vergara-Castañeda HA, Oomah BD. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. Trends in Food Science & Technology 2015;45:24-36.
11. Lozano RP, García YA, Tafalla DB, Albaladejo MF. Cafeína: un nutriente, un fármaco, o una droga de abuso. Adicciones 2007;19:225-38.
12. Nawrot P, Jordan S, Eastwood J, Rotstein J, Hugenholtz A, Feeley M. Effects of caffeine on human health. Food Additives & Contaminants 2003;20:1-30.
13. Duro Mota E, Causín Serrano S, Campillos Páez MT, Vallés Ugarte M. Consumo de cafeína y riesgo de aborto espontáneo en el primer trimestre. Medifam 2001;11:105-8.
14. Nordestgaard AT, Thomsen M, Nordestgaard BG. Coffee intake and risk of obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes: a Mendelian randomization study. International journal of epidemiology 2015;44:551-65.
15. Santos RMM, Lima DRA. Coffee consumption, obesity and type 2 diabetes: A mini-review. European journal of nutrition 2016;55:1345-58.
16. Gaeini Z, Bahadoran Z, Mirmiran P, Azizi F. Tea, coffee, caffeine intake and the risk of cardio-metabolic outcomes: findings from a population with low coffee and high tea consumption. Nutrition & metabolism 2019;16:28.
17. O'Keefe JH, Bhatti SK, Patil HR, DiNicolantonio JJ, Lucan SC, Lavie CJ. Effects of habitual coffee consumption on cardiometabolic disease, cardiovascular health, and all-cause mortality. Journal of the American College of Cardiology 2013;62:1043-51.
18. Yu MC, Mack TM, Hanisch R, Cicioni C, Henderson BE. Cigarette smoking, obesity, diuretic use, and coffee consumption as risk factors for renal cell carcinoma. Journal of the National Cancer Institute 1986;77:351-6.
19. Salari-Moghaddam A, Milajerdi A, Surkan PJ, Larijani B, Esmailzadeh A. Caffeine, Type of Coffee, and Risk of Ovarian Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2019;104:5349-59.
20. Hernán MA, Takkouche B, Caamaño-Isorna F, Gestal-Otero JJ. A meta-analysis of coffee drinking, cigarette smoking, and the risk of Parkinson's disease. Annals of neurology 2002;52:276-84.
21. Acheson KJ, Zahorska-Markiewicz B, Pittet P, Anantharaman K, Jéquier E. Caffeine and coffee: their influence on metabolic rate and substrate utilization in normal weight and obese individuals. The American journal of clinical nutrition 1980;33:989-97.
22. Gorji Z, Nazary-Vannani A, Varkaneh HK, et al. The effect of green-coffee extract supplementation on obesity: A systematic review and dose-response meta-analysis of randomized controlled trials. Phytomedicine 2019;153:018.
23. Voskoboinik A, Kalman JM, Kistler PM. Caffeine and arrhythmias: time to grind the data. JACC: Clinical Electrophysiology 2018;4:425-32.
24. Martínez-López S, Sarriá B, Mateos R, Bravo-Clemente L. Moderate consumption of a soluble green/roasted coffee rich in caffeoylquinic acids reduces cardiovascular risk markers: Results

from a randomized, cross-over, controlled trial in healthy and hypercholesterolemic subjects. *European journal of nutrition* 2019;58:865-78.

25. Turnbull D, Rodricks JV, Mariano GF, Chowdhury F. Caffeine and cardiovascular health. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2017;89:165-85.

26. Agardh E, Carlsson S, Ahlbom A, et al. Coffee consumption, type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Swedish men and women. *Journal of internal medicine* 2004;255:645-52.

27. Wayne TF. Una taza de café y otras terapias alternativas en medicina clínica. *Revista costarricense de cardiología* 2009;11:41-6.

28. Arab L. Epidemiologic evidence on coffee and cancer. *Nutrition and cancer* 2010;62:271-83.

29. Nieto JGR, San Pedro EM, Luciano AG, Coronado JLB. Efectos del consumo de café para la salud cardiovascular, la diabetes y el desarrollo de cáncer. *Psicothema* 2004;16:531-47.

30. Armstrong BG, McDonald AD, Sloan M. Cigarette, alcohol, and coffee consumption and spontaneous abortion. *American journal of public health* 1992;82:85-7.

31. Leelarungrayub D, Sallepan M, Charoenwattana S. Effects of acute caffeinated coffee consumption on energy utilization related to glucose and lipid oxidation from short submaximal Treadmill exercise in sedentary Men. *Nutrition and metabolic insights* 2011;4:NMI.S8299.

32. Lyngsø J, Kesmodel US, Bay B, Ingerslev HJ, Andersen A-MN, Ramlau-Hansen CH. Impact of female daily coffee consumption on successful fertility treatment: a Danish cohort study. *Fertility and sterility* 2019.

33. Karmon AE, Toth T, Chiu YH, et al. Male caffeine and alcohol

intake in relation to semen parameters and in vitro fertilization outcomes among fertility patients. *Andrology* 2017;5:354-61.

34. Jensen TK, Swan SH, Skakkebaek NE, Rasmussen S, Jørgensen N. Caffeine intake and semen quality in a population of 2,554 young Danish men. *American journal of epidemiology* 2010;171:883-91.

35. Goldstein A, Warren R. Passage of caffeine into human gonadal and fetal tissue. *Biochemical pharmacology* 1962;11:166-8.

36. Mayorga Torres B, Camargo M, Cadavid AP, Maya C, Walter D. Estrés oxidativo: ¿un estado celular defectuoso para la función espermática? *Revista chilena de obstetricia y ginecología* 2015;80:486-92.

37. Mayorga-Torres B, Cardona-Maya W, Cadavid A, Camargo M. Evaluación de los parámetros funcionales espermáticos en individuos infértiles normozoospermicos. *Actas urológicas españolas* 2013;37:221-7.

38. Agarwal A, Ikemoto I, Loughlin KR. Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. *The Journal of urology* 1994;152:107-10.

39. Iraizoz Barrios AM. Influencia del estrés oxidativo seminal en el resultado de técnicas de fertilización in vitro. 2017.

40. Organization WH. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2010.

41. Acevedo PCL, Maya WDC. Selección espermática in vitro: espermatozoides con mejores características funcionales. *Urología Colombiana* 2017;26:26-33.

42. Aitken RJ, Wingate JK, De Iuliis GN, McLaughlin EA. Analysis of lipid peroxidation in human spermatozoa using BODIPY C11. *MHR: Basic science of reproductive medicine* 2007;13:203-11.

43. Blanchard J, Sawers S. The absolute bioavailability of caffeine in

¡EN STOCK!



## Artron COVID-19 Prueba de anticuerpos IgM / IgG

**NUEVO  
TEST  
RÁPIDO**

### DATOS TÉCNICOS

- ✓ El kit proporciona los siguientes elementos:  
Cassette de prueba, Tubo capilar, Buffer de muestra, Instrucciones de uso
- ✓ Sensibilidad IgG/IgM 97,22%
- ✓ Especificidad IgG/IgM 97,88%
- ✓ N° de catálogo: A03-51-322

Origen: Canadá

**Ensayo inmunocromatográfico rápido, cualitativo, de captura de anticuerpos para detección y diferenciación simultánea de anticuerpos IgM e IgG al virus COVID-19 en suero, plasma y / o sangre entera.**

Mirá nuestro portafolio completo de productos para COVID-19:  
RT-qPCR • ELISA • TESTS RÁPIDOS • KITS DE EXTRACCIÓN • ONE-STEP RT-qPCR

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

**Biocientífica**  
Calidad en Reactivos. Excelencia en Biotecnología.

**CLICK  
ACÁ**

- man. *European journal of clinical pharmacology* 1983;24:93-8.
44. Alvi SN, Hammami MM. Validated HPLC method for determination of caffeine level in human plasma using synthetic plasma: application to bioavailability studies. *Journal of chromatographic science* 2011;49:292-6.
  45. Mandel H. Update on caffeine consumption, disposition and action. *Food and Chemical Toxicology* 2002;40:1231-4.
  46. BEACH CA, BIANCHINE JR, GERBER N. The excretion of caffeine in the semen of men: pharmacokinetics and comparison of the concentrations in blood and semen. *The Journal of Clinical Pharmacology* 1984;24:120-6.
  47. Varea RL. Efecto de los factores ambientales en la calidad espermática del hombre: Universitat Autònoma de Barcelona; 2017.
  48. Funahashi H, Nagai T. Regulation of in vitro penetration of frozen-thawed boar spermatozoa by caffeine and adenosine. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research* 2001;58:424-31.
  49. Dlugosz L, Bracken MB. Reproductive effects of caffeine: a review and theoretical analysis. *Epidemiologic reviews* 1992;14:83-100.
  50. Shi X, Dalal N, Jain A. Antioxidant behaviour of caffeine: efficient scavenging of hydroxyl radicals. *Food and chemical toxicology* 1991;29:1-6.
  51. Devasagayam T, Kamat J, Mohan H, Kesavan P. Caffeine as an antioxidant: inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Biomembranes* 1996;1282:63-70.
  52. León-Carmona JR, Galano A. Is caffeine a good scavenger of oxygenated free radicals? *The Journal of Physical Chemistry B* 2011;115:4538-46.
  53. Chaves C, Esquivel P. Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana* 2019;30:299-311.
  54. Esquivel P, Jiménez VM. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International* 2012;46:488-95.
  55. Paz JEW, Guyot S, Herrera RR, et al. Alternativas Actuales para el Manejo Sustentable de los Residuos de la Industria del Café e del Café en México Current Alternatives for Sustainable Management of Coffee Industry By Current Alternatives for Sustainable Management of Coffee Industry By-Products Products in Mexico. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila* 2013;5.
  56. Díaz FO, Ormaza AM, Rojano BA. Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza, Contenido de Compuestos Antioxidantes y la Actividad Antioxidante. *Información tecnológica* 2018;29:31-42.
  57. FONSECA-GARCÍA L, CALDERÓN-JAÍMES LS, Rivera ME. Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia). *Vitae* 2014;21:228-36.
  58. Panusa A, Zuorro A, Lavecchia R, Marrosu G, Petrucci R. Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of agricultural and food chemistry* 2013;61:4162-8.
  59. Goodman BA, Glidewell SM, Deighton N, Morrice AE. Free radical reactions involving coffee. *Food chemistry* 1994;51:399-403.
  60. Rodríguez-Alonso B, López-Fernández C, Núñez-Calonge R, et al. Impacto del estrés oxidativo en la dinámica de fragmentación del ADN espermático. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica* 2016;3:137-43.
  61. Sánchez-Valle V, Méndez-Sánchez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur* 2018;20:161-8.
  62. Mayorga-Torres JM, Agarwal A, Roychoudhury S, Cadavid A, Cardona-Maya WD. Can a Short Term of Repeated Ejaculations Affect Seminal Parameters? *J Reprod Infertil* 2016;17:177-83.
  63. Mayorga-Torres BJM, Camargo M, Cadavid AP, du Plessis SS, Cardona Maya WD. Are oxidative stress markers associated with unexplained male infertility? *Andrologia* 2017;49.
  64. Aitken RJ, Koppers AJ. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian journal of andrology* 2011;13:36.
  65. Agarwal A, Virk G, Ong C, Du Plessis SS. Effect of oxidative stress on male reproduction. *The world journal of men's health* 2014;32:1-17.
  66. Mayorga Torres JM, Peña B, Cadavid AP, Cardona Maya WD. La importancia clínica del ADN espermático en el análisis seminal cotidiano. *Revista chilena de obstetricia y ginecología* 2015;80:265-8.
  67. Aitken RJ. Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction* 2020;159:R189-R201.
  68. Arafa M, Agarwal A, Majzoub A, et al. Efficacy of Antioxidant Supplementation on Conventional and Advanced Sperm Function Tests in Patients with Idiopathic Male Infertility. *Antioxidants (Basel)* 2020;9.
  69. Allauca P, Ugarelli A, Santiani A. Determinación del potencial de membrana mitocondrial mediante citometría de flujo durante el proceso de criopreservación de espermatozoides epididimarios de alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 2019;30:288-98.
  70. Amaral A, Lourenço B, Marques M, Ramalho-Santos J. Mitochondria functionality and sperm quality. *Reproduction* 2013;146:R163-R74.
  71. Paparella CV, Pavesi AB, Feldman RN, Bouvet BR. Importancia de la evaluación del estrés oxidativo en el semen humano. 2 ■

# 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

#### 💧 Onco-Hematológicas

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

#### 🏠 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

#### 👤 Enfermedades de transmisión sexual

- MG + Resistance
  - M. genitalium
  - Macrolide resistance

- STI PLUS Panel
  - C. trachomatis
  - N. gonorrhoeae
  - M. genitalium
  - T. vaginalis

- C. trachomatis

#### 👤 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

#### 👤 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

**MANLAB®**  
 Diagnóstico Bioquímico y Genómico

# Importancia de los niveles de Dímero D en Covid-19

**>>>** En la infección por Covid-19 se observa una elevación pronunciada de los valores de DD. Recientemente, se propuso establecer una serie de estadios clínicos en relación con las anomalías observadas en coagulación. En la siguiente revisión presentada por laboratorios MANLAB se aborda la importancia de los niveles de Dímero D en Covid-19.

## **>>> AUTORES**

Leonardo Bello, Astrid Kahl, Ricardo Forastiero

**Área Hemostasia ManLab**  
 Buenos Aires, Argentina

**>>>** La infección por el nuevo coronavirus a fines del año 2019 (Covid-19) rápidamente se convirtió en pandemia y produjo un gran desafío tanto en el manejo clínico del número creciente de infectados como en el conocimiento de la patogenia de la infección. Se caracteriza por un síndrome respiratorio agudo severo que se conoce con la sigla SARS-CoV2. Tiene un periodo de incubación de 2-14 días y la mayor carga viral se ha detectado en el día 10. El Covid-19 se une al receptor ACE-2 (enzima convertidora de angiotensina) a través de algunas de las glicoproteínas presentes en el exte-

rior del virus y de esa manera logra la internalización en una amplia variedad de células (1-3).

## **Aspectos generales de la asociación coagulación/Covid-19**

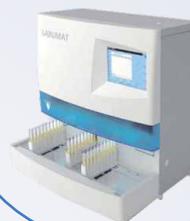
Desde los primeros estudios en China se han reportado anomalías en el sistema de hemostasia asociadas a la falla respiratoria y posterior muerte (3). En pacientes con infección en etapa severa se han encontrado además fenómenos tromboembólicos asociados a la coagulopatía por Covid-19. Los cambios observados se asemejan a lo detectado en otras infecciones y se conocen como coagulación intravascular diseminada (CID) o microangiopatía trombótica (TMA). Sin embargo, en esta infección los cambios hemostáticos son diferentes a lo reportado clásicamente en CID o TMA (4,5).

**GEMATEC**  
equipamiento para medicina

HEMATOLOGÍA



ORINAS



QUÍMICA CLÍNICA



Convertimos  
tecnología  
en confianza

BIOMARCADORES DE URGENCIA



INMUNOENSAYOS



NEFELOMETRÍA



MEDIO INTERNO



COAGULACIÓN



📍 Int. Avalos 3651 | (1605) | Munro  
Buenos Aires, Rep. Argentina

☎ Tel./Fax: (54 11) 4512 5666  
✉ ventas@gematec.com.ar

🌐 [www.gematec.com.ar](http://www.gematec.com.ar)  
📘 @Gematecarg

Hubo varias teorías al respecto, pero el consenso general es que la coagulopatía es debida a los cambios inducidos por la intensa inflamación y la injuria endotelial. Como resultado de la injuria se liberan grandes cantidades de factor von Willebrand y activadores de fibrinolisis desde el endotelio.

En la Tabla 1 se resumen los principales cambios hemostáticos en pacientes que sobreviven o no a la infección por Covid-19. Se observa una frecuencia de trombocitopenia leve mucho mayor en los no sobrevivientes al igual que un descenso en el porcentaje del tiempo de protrombina (TP). Un hallazgo muy frecuente y significativo es el incremento exagerado de fibrinógeno en plasma tanto en los que sobreviven como en los que no. Esto es un marcador de la excesiva inflamación observada en Covid-19 y un reactante de fase aguda mediada por los niveles muy elevados de interleuquina 6 (IL-6). En pacientes que terminan en muerte se ha observado en un pequeño porcentaje una disminución de fibrinógeno en los días previas al desenlace fatal.

>> **Tabla 1.** Principales anomalías de coagulación en infección por Covid-19

	Sobrevivientes	No sobrevivientes
Plaquetas <150x10 <sup>9</sup> L	30-70%	45-80%
Plaquetas <100x10 <sup>9</sup> L	0-1%	3-5%
TP 50-70%	0-5%	15-25%
Fibrinógeno <1.0 g/L	0%	5-10%
Fibrinógeno >4.0 g/L	80-100%	80-100%
DD >1mg/L	15-25%	80-90%
DD >3mg/L	1-5%	50-70%
Antitrombina <80%	0%	0-2%

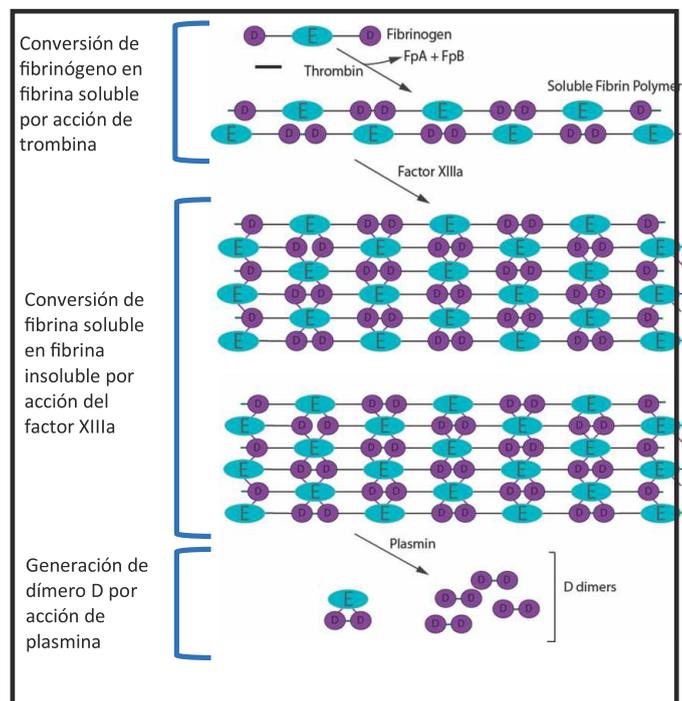
Quizás el marcador más significativo es la elevación del dímero D (DD). Cerca del 50% de pacientes con Covid-19 tienen altos valores de DD. Mas aun, los niveles extremadamente altos se asocian con la necesidad del uso de respiradores y

de muerte (6).

### Formación fisiológica de DD

En la Figura 1 se muestra un esquema básico de la generación fisiológica de DD en sangre. Como resultado de la activación de coagulación se genera trombina que actúa sobre las moléculas de fibrinógeno (dominios D-E-D) circulante liberando secuencialmente los fibrinopéptidos A y B formando monómeros de fibrina soluble. En presencia de factor XIII activado (también activado por trombina) esos monómeros de fibrina soluble se interconectan por la acción catalítica del factor XIIIa y generan fibrina insoluble (malla de fibrina). Simultáneamente con la activación de coagulación se produce más lentamente la activación del sistema de fibrinolisis y a partir del plasminógeno se genera plasmina que degrada proteolíticamente la fibrina en productos como DD y otros productos de degradación de la fibrina (PDF).

>> **Figura 1.** Generación fisiológica de dímero D en hemostasia

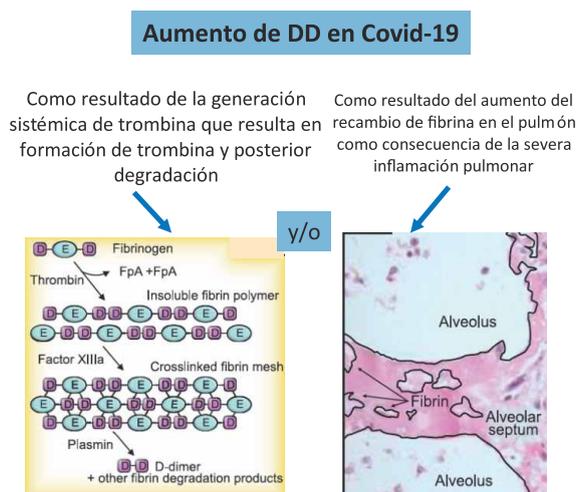


### Vías de formación de DD en Covid-19

En el contexto de la infección por Covid-19 la elevación tan pronunciada de los valores de DD se piensa que resulta de la interconexión entre inflamación y coagulación (Figura 2) (4). Como mencionamos recién el DD puede resultar de la

previa generación de trombina y formación de fibrina que termina en la activación de fibrinolisis y generación de varios productos de degradación de la fibrina (entre ellos DD). Hay evidencia que favorece esta vía de formación de DD como la coagulopatía que se observa con leve disminución del recuento plaquetario y la prolongación del tiempo de protrombina. Sin embargo, el score clínico de CID no muestra un fenómeno de CID a pesar de los niveles muy altos de DD. El Covid-19 tiene capacidad de activar monocitos y como resultado se liberan grandes cantidades de citoquinas que estimulan los neutrófilos, linfocitos, plaquetas y células endoteliales. Estas células activadas expresan en superficie factor tisular y fosfatidilserina iniciando la activación del sistema de coagulación.

**>> Figura 2.** Causas del incremento muy elevado del DD en la infección Covid-19



**A favor:**  
hay coagulopatía que sugiere generación de trombina

**En contra:**  
el incremento de DD es desproporcionado a lo que se ve en los otros marcadores

**A favor:**  
el depósito de fibrina es típico del SARS y de la activación de macrófagos

**En contra:**  
existe cierto grado leve de coagulopatía sistémica

La otra vía de generación de DD se relaciona a la tormenta de citoquinas generada por el Covid-19 como resultado de la intensa reacción inflamatoria a nivel pulmonar (Figura 2). Esto deriva en una incontrolable activación de macrófagos, linfocitos y neutrófilos. El daño endotelial es muy intenso y es responsable de la trombosis microvascular en los pulmones. El organismo reacciona en forma defensiva a la formación de trombos a través de una extrema acción fibrinolítica. El tejido pulmonar tiene una gran capacidad fibrinolítica (a través del activador tisular del plasminógeno). De tal manera que se genera DD en niveles extremos que son liberados y detectados en circulación sanguínea. Habiendo pasado unos meses desde el comienzo de esta pandemia, hay consenso que la trombosis pulmonar asociada a la coagulopatía en esta infección viral se considera un fenómeno de inmutrombosis (trombosis secundaria a inflamación). La CID clásica no es típica en Covid-19 y solamente se observa en etapas terminales con fallo multiorgánico (7).

Desde los primeros reportes fue evidente la clara alteración de ciertos parámetros de

DIAGNOS MED S.R.L.

EUROIMMUN

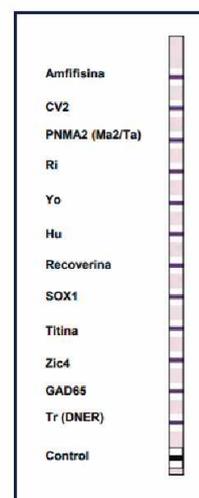
**Kit Euroimmun para Síndromes Neurológicos Paraneoplásicos (SNP)**

Presentación 16 tiras recubiertas con antígenos Clase IgG  
Producto registrado ante ANMAT

**Ralizamos pedidos mensuales.**

Para mayor información comunicarse al:  
[info@diagnosmed.com](mailto:info@diagnosmed.com) - [promocion2@diagnosmed.com](mailto:promocion2@diagnosmed.com)  
O bien al (011)4552-2929 Líneas rotativas

[www.diagnosmed.com](http://www.diagnosmed.com)

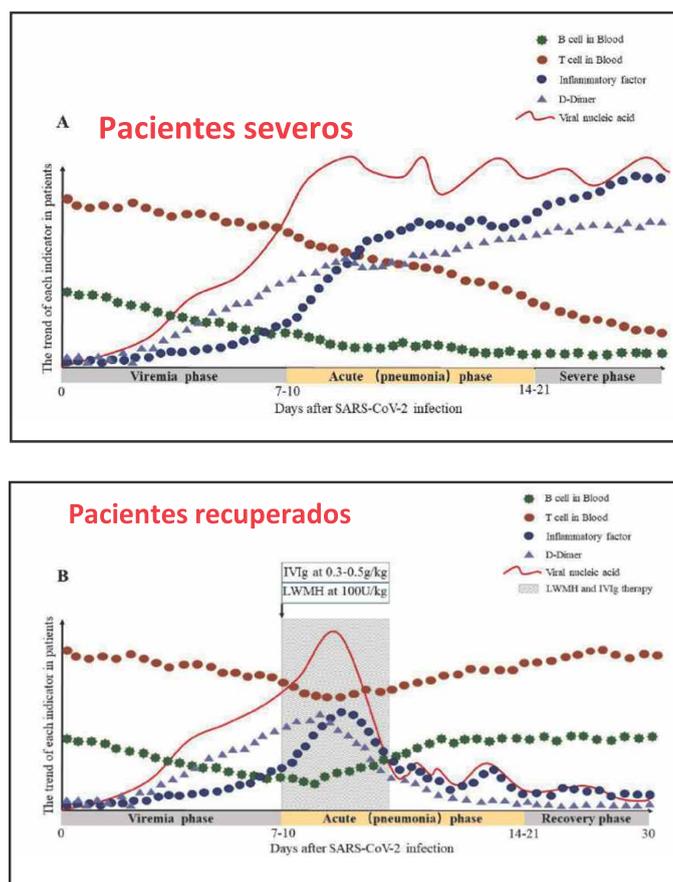


laboratorio en pacientes infectados con Covid-19. Entre ellos el incremento sostenido de DD fue observado en todos los estudios publicados.

En un estudio clínico en China evaluando 41 pacientes internados con Covid-19 confirmado se observó que los valores de DD eran cerca de 5 veces más altos en aquellos con mayor severidad en la patología. El rango obtenido era de 0.6–14.4 mg/L (mediana de 2.4 mg/L) en pacientes severos respecto a 0.3–0.8 mg/L (mediana de 0.5 mg/L  $p < 0.005$ ) en pacientes no severos (2). Tang y col (3) evaluaron 183 pacientes y detectaron un incremento de cerca de 3.5 veces mayor en pacientes con infección severa (mediana de 2.12 mg/L) respecto a aquellos no severos (mediana de 0.61 mg/L,  $p < 0.001$ ). Otro estudio de China (8) encontró que en pacientes que fallecieron los niveles de DD fueron 9 veces mayores que en los sobrevivientes (mediana 5.2 mg/L, rango: 1.5–21.1 mg/L vs mediana 0.6 mg/L, rango: 0.3–1.0 mg/L,  $p < 0.001$ ).

En un análisis estadístico de los estudios publicados se confirmó que los niveles de DD son claramente mayores en pacientes con la forma severa de la infección con Covid-19 que en aquellos pacientes con formas leves de la infección (9). Por lo tanto, se considera que la evaluación de este marcador DD se relaciona con la evolución de la enfermedad. En la Figura 3 se muestra la evolución de distintos parámetros de laboratorio en este tipo de pacientes. El gráfico muestra tres etapas: viremia, aguda y severa/recuperación. Se puede observar que en pacientes severos (parte A) la carga viral se incrementa en forma sostenida en las 3 etapas al igual que los marcadores inflamatorios (ej IL-6) y los valores de DD plasmático. En cambio, en pacientes recuperados (parte B) tanto la carga viral como los marcadores inflamatorios y DD alcanzan su pico en la etapa aguda, pero disminuyen significativamente en la etapa de recuperación.

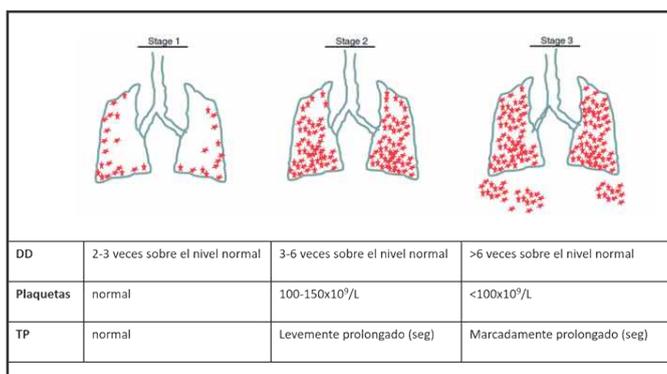
**>> Figura 3.** Comportamiento de ciertos parámetros de laboratorio en las tres fases de la infección. (A) pacientes severos, (B) pacientes con recuperación



Recientemente, se propuso establecer una serie de 3 estadios clínicos en relación con las anomalías observadas en coagulación en infección con Covid-19 (10). La misma sería útil para clasificar a los pacientes en relación con la fisiopatología y la terapéutica a utilizar. En el estadio 1 donde se encontrarían los pacientes internados con sintomatología leve o en domicilio, los niveles de DD pueden estar normales o elevados hasta 2-3 veces el nivel normal con recuento de plaquetas y TP normales. A nivel pulmonar podría haber solamente microtrombosis en el parénquima y quizás no se detecte por estudios de imágenes. Se recomienda que en este estadio los individuos sean evaluados diariamente en los tres parámetros mencionados en la Figura 4. En el estadio 2 los pacientes tendrían mayor sintomatología correspondiente a microtrombosis mas extensa en los pulmones que son detectados en estudios de tomografías computadas. Los niveles de DD serian mayores que en la etapa 1 en el rango de 3-6 veces sobre el valor normal. Además, el recuento de plaquetas y el TP se encuentran levemente alterados. La etapa crítica con internación en terapia intensiva correspondería al estadio 3 con trombosis pulmonar mucho mas extensa y trombosis sistémica acompañada o no por CID. Los parámetros de laboratorio están mucho más

alterados con niveles de DD mayores a 6 veces sobre el nivel normal. Esta propuesta requiere validación en otros trabajos pero es un avance importante en la estratificación de pacientes con Covid-19.

**>> Figura 4.** Propuesta de estadios clínicos en relación con las anomalías en coagulación y Covid-19. Estadio 1 (microtrombos en parénquima pulmonar), estadio 2 (microtrombos en mayor extensión) y estadio 3 (trombosis sistémica)



## >>> REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020; 382:1708–20.
- Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395:497–506.
- Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; 18:844–7.
- Levi M, Hunt B. Thrombosis and coagulopathy in Covid-19: an illustrated review. *Res Pract Thromb Haemost* 2020; 4:744-51.
- Levi M. COVID-19 coagulopathy vs disseminated intravascular coagulation. *Blood Adv* 2020; 4:2850.
- Thachil J, Tang N, Gando S, et al. ISTH interim guidance on recognition and management of coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020;18:1023-6.
- Iba T, Levy JH, Levi M, et al Coagulopathy in COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020: 10.1111/jth.14975. doi: 10.1111/jth.14975.
- Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020: S0140-6736(20)30566-3.

Lippi G, Favaloro EJ. D-dimer is associated with severity of coronavirus disease 2019: A pooled analysis. *Thromb Haemost*. 2020;120: 876-8.

Thachil J, Cushman M, Srivastava A. A proposal for staging COVID-19 coagulopathy. *Res Pract Thromb Haemost* 2020; 4:731-6. ■

**MANLAB**<sup>®</sup>  
Diagnóstico Bioquímico y Genómico



# Niveles de Anticuerpos Antirreceptor de Fosfolipasa A2 en Pacientes con Nefropatía Membranosa y Síndrome Nefrótico

**>>>** La nefropatía membranosa (NM) primaria es el fenotipo histológico e inmunohistoquímico más frecuente en los pacientes adultos no diabéticos que se presentan con un síndrome nefrótico idiopático. En el siguiente artículo se evalúan los niveles de Anticuerpos Antirreceptor de Fosfolipasa A2 en Pacientes con Nefropatía Membranosa y Síndrome Nefrótico.

## **>>>** AUTORES

Antonio Vilches (1), María Elena Biaiñ (1), Gustavo Laham (1), Carlos Díaz (1), Carolina Carrizo (2), Roberto Iotti (3)

Sección Nefrología, Servicio de Medicina Interna, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Argentina.

Sección Reumatología, Servicio de Laboratorio, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Argentina.

Servicio de Anatomía Patológica, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Argentina

## **>>>** CORRESPONDENCIA:

Dra. María Elena Biaiñ  
Email: mariaelenabiain@gmail.com

**Financiamiento:** Ninguno.

**Conflicto de intereses:** Ninguno que declarar.

## **>>>** RESUMEN

**Introducción:** La nefropatía membranosa primaria es uno de los fenotipos histológicos e inmunohistoquímicos más frecuentes en los pacientes adultos con síndrome nefrótico. Con la identificación del anticuerpo del receptor tipo M de la fosfolipasa A2 (PLA2R), la detección del Anti-PLA2 en suero cambió el enfoque diagnóstico, el control de la eficacia terapéutica y el seguimiento evolutivo de esta nefropatía. En la mayoría de las series



# 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. "1" | C1107APB | CABA | Argentina | Tel./Fax: +5411 4300-9090

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

alrededor de un 70% de los pacientes vírgenes de tratamiento con nefropatía membranosa en actividad son positivos para este anticuerpo.

**Objetivo:** Nuestro objetivo fue determinar el nivel de anticuerpo en los pacientes con nefropatía membranosa y en los pacientes con síndrome nefrótico.

**Material y métodos:** Estudio retrospectivo y observacional en donde se evaluaron 101 pacientes (86 nefropatías membranosas confirmadas por biopsia renal y 15 sin diagnóstico anatomopatológico) a quienes se les realizó medición de Anti-PLA2R. Analizamos datos demográficos, de laboratorio (creatinina, albúmina, proteinuria), histopatología renal y tratamientos instaurados. Dividimos a los pacientes con nefropatía membranosa confirmada por biopsia de acuerdo al resultado del Anti- PLA2 en 2 grupos: Positivos a los que presentaban un valor igual o > a 20 U/ml y los negativos (n=56) igual o < a 14 U/ml. Descartamos a los pacientes con resultado dudoso.

**Resultados:** En los pacientes que tenían biopsia renal con patrón de nefropatía membranosa el dosaje de Anti-PLA2R fue positivo en el 29% (n=25) de la muestra total, dudoso en 5,8% (n=5) y negativo en 65,2% (n=56), mientras que solo 1 de los 15 pacientes que cursaban síndrome nefrótico sin diagnóstico anatomopatológico fue positivo para Anti-PLA2. El dosaje de Anti- PLA2 fue positivo en el 47,7% en un subgrupo de pacientes (n=35) que se realizó el dosaje no más de 6 meses posteriores a la biopsia renal. No encontramos diferencias significativas entre los grupos de Anti- PLA2R positivos (n=25) y negativos (n=56) en cuanto a edad, sexo, valor de albúmina, creatinina plasmática y proteinuria.

**Conclusiones:** En nuestra muestra obtuvimos bajo porcentaje de positividad para Anti- PLA2R comparado con lo reportado en la literatura. El dosaje de Anti- PLA2R debería ser efectuado al comienzo de un síndrome nefrótico, previo a cualquier tratamiento para determinar la necesidad de biopsia renal o con el resultado de la misma para determinar si se trata de una forma primaria o secundaria y evaluar la respuesta a fármacos o a una conducta de “vigilancia activa”.

**Palabras Clave:** nefropatía membranosa; síndrome nefrótico; dosaje de anti-PLA2R; anticuerpo antifos-folipasa A2; anti-PLA2R

## >>> INTRODUCCIÓN

La nefropatía membranosa (NM) primaria es el fenotipo histológico e inmunohistoquímico más frecuente en los pacientes adultos no diabéticos que se presentan con un síndrome nefrótico idiopático. Si bien el rango etario de presentación es amplio, tiene una incidencia pico en la quinta y sexta década de la vida, su curso clínico es variable y su pronóstico incierto. Un tercio puede presentar remisión espontánea sin recibir tratamiento alguno, otro tercio persiste estable a lo largo del tiempo, y el tercio restante deteriora la función renal hasta alcanzar el estadio 5 (tasa de filtración glomerular < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) de la enfermedad renal crónica (ERC) en el lapso de 5 a 15 años.

Su característica distintiva en la microscopía óptica, de la cual deriva el término “membranosa”, es el engrosamiento de la membrana basal glomerular debido a depósitos ubicados entre la lámina rara externa de la membrana basal glomerular y los podocitos y por la expansión de matriz entre estos depósitos inmunes. Las formas primarias o idiopáticas constituyen el 80% de los casos e históricamente no han tenido una etiopatogenia identificable, mientras que las formas secundarias lo son a enfermedades autoinmunes, infecciosas, neoplásicas, o por exposición a fármacos.

Si bien en el modelo experimental, la nefritis de Heymann, la naturaleza del antígeno blanco en los inmunocomplejos formados *in-situ* era bien conocido, la megalina, su caracterización en la NM humana resultó esquiva para los numerosos grupos que la intentaron hasta que Debiec y Ronco<sup>(1)</sup> identificaron al complejo formado por la endopeptidasa neutra y el aloanticuerpo sintetizado por la madre en casos en los que ésta por ser genéticamente deficiente en esta proteína sintetizaba intraútero anticuerpos dirigidos contra la endopeptidasa neutra fetal, un fenómeno extremadamente infrecuente, induciendo un síndrome nefrótico análogo a la NM experimental.

Este hallazgo marcó el comienzo de una

nueva era. Fue así que, en el año 2009, el laboratorio de David Salant en Boston y, en 2014, este mismo grupo, con la participación del grupo de Lambeau en Niza y de Stahl en Hamburgo, lideraron la identificación de dos antígenos, el receptor tipo M de la fosfolipasa A2 (PLA2R), Dosaje de Anti-PLA2 en Argentina que representa aproximadamente el 70% de los pacientes con NM y la trombospondina tipo 1 con contenido de 7 A (TH D7A) entre 1-5% de los pacientes.<sup>(2-3)</sup> Recientemente, se descubrió otro antígeno proteína tipo 1 del factor de crecimiento epidérmico neural (NELL 1) que también definirá un tipo diferente de NM primaria.<sup>(4)</sup>

Las descritas anteriormente son glicoproteínas de transmembrana expresadas por el podocito. Se desconocen hasta ahora los factores que gatillan la respuesta inmune. Esta proporción, en especial el 70% vinculable a anti-PLA2R, es bastante constante en los distintos grupos étnicos estudiados que no han recibido tratamiento aún, con la posible excepción de los japoneses<sup>(5)</sup> en los

que parece estar más cercano al 50%.

Los anticuerpos, en general de la subclase IgG4, son detectables en el suero de los pacientes y reconocen un solo epítipo sensible, exclusivamente en condiciones reductoras, es decir, de captación de electrones.<sup>(6)</sup> El antígeno forma parte de los depósitos granulares de la NM, aun en los pacientes seronegativos en los que este sistema antígeno-anticuerpo es responsable, y su presencia puede ser determinada en el tejido obtenido por biopsia renal.

Estos estudios han resultado cruciales para una mejor caracterización de los adultos con un síndrome nefrótico vinculable a un fenotipo membranoso, el énfasis con que debe efectuarse el tamizaje buscando tumores, la probabilidad alta o baja de una remisión espontánea, la respuesta serológica a la terapéutica instituida, la anticipación de una respuesta clínica (descenso de la proteinuria y ascenso de la albúmina sérica) antes de que estos cambios se produzcan, la probabili-



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 pCO<sub>2</sub> pO<sub>2</sub>**

**BAJO CONSUMO DE REACTIVOS**

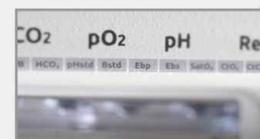
**INGRESO DE MUESTRA POR  
ASPIRACIÓN DE TUBO O JERINGA,  
INYECCIÓN Y MICROMÉTODO.**

**ELECTRODOS Y REACTIVOS  
INDIVIDUALES**

**FÁCIL MANTENIMIENTO**

**DATOS DE ALMACENAMIENTO  
ILIMITADOS**

**DISPLAY INTERACTIVO DE 10 "**



**SERVICIO TÉCNICO ESPECIALIZADO**



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

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



dad de una recurrencia y de la reaparición de la enfermedad en el trasplante renal. Así entonces el anti-PLA2R constituye un biomarcador simple, disponible comercialmente y de gran utilidad práctica.<sup>(7-8)</sup>

Si bien los estudios originales utilizaron técnicas de Western Blot e inmunofluorescencia, más recientemente una determinación, basada en la técnica de ELISA o enzimo inmunoensayo (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas), ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) de los EE.UU. y permite detectar a los pacientes con actividad en quienes los inmunocomplejos PLA2R-Anti- PLA2R participan de su patogénesis. Si bien se ha señalado que existen pacientes clínicamente en remisión que no tienen anticuerpos circulantes pero que el antígeno sí está presente en el tejido obtenido por biopsia y también, hay pacientes activos, es decir nefróticos, seronegativos que no obstante muestran tinción positiva para el antígeno en la biopsia- tal vez por atrapamiento en el tejido blanco y que más tarde se tornan seropositivos.

Esta prueba de laboratorio es muy específica (> 90%) pero no es tan sensible (70%) para NM. Debe mencionarse que un cierto porcentaje de los pacientes con NM vinculables a hepatitis B, hepatitis C y sarcoidosis son positivos para Anti-PLA2R. No se detectaron anticuerpos en otras glomerulopatías.<sup>(9-10)</sup>

El objetivo del presente estudio fue analizar la experiencia recogida en un solo Centro de Argentina relativa a algunos aspectos vinculados con el uso clínico del anticuerpo anti-PLA2R, a saber:

Determinar los niveles de anti-PLA2R en pacientes con NM en la biopsia renal en diferentes estadios de su evolución.

Determinar los niveles de anti-PLA2R en pacientes en proceso de estudio de un síndrome nefrótico previamente a la realización de una biopsia renal.

Correlacionar los niveles de anti- PLA2R con variantes del fenotipo histológico, presentación clínica original y la situación clínica en el

momento de la determinación.

Correlacionar los cambios en los niveles de anticuerpos con la respuesta terapéuticas observadas con el tratamiento.

Determinar los niveles de anti-PLA2R en pacientes con NM lúpica y otras glomerulopatías.

## >>> MATERIAL Y MÉTODOS

Es un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo de corte transversal donde se analizaron 169 sueros de pacientes que presentaban NM confirmada por biopsia renal o tenían un síndrome nefrótico en estudio sin biopsia realizada. La determinación de anticuerpos se realizó entre el 1° de julio del 2015 y el 1° de noviembre del 2018. Los pacientes incluidos consultaron en nuestra Institución o fueron derivados de varios hospitales públicos y privados de Argentina para la realización del dosaje de anti-PLA2R. Obtuvimos datos clínicos en 101 pacientes (59,7%). Se analizaron datos demográficos, de laboratorio, resultados de la histopatología renal, tratamiento recibido y la respuesta al mismo, presencia de recaídas y su evolución. Dividimos a la población de estudio en 2 grupos de acuerdo al valor de anti-PLA2 en positivos y negativos.

Las muestras se procesaron por medio de un equipo de enzimo inmunoensayo comercial (ELISA; Euroimmun) de acuerdo a las instrucciones provistas por el fabricante. Los sueros fueron diluidos 1:100 se incubaron 30 min. En micro placas cubiertas con PLA2R junto con los calibradores y controles positivo y negativo. Los anticuerpos se detectaron por la incubación de una anti IgG humana conjugada con peroxidasa de rábano (HRP) que reconoce todas las subclases de IgG. De acuerdo con las especificaciones del fabricante y con las pautas que surgen de la literatura en este tema se consideraron positivas todas las muestras iguales o mayores a 20 U/ml, negativas aquellas con valores < a 14 U/ml y dudosas aquellas con valores entre 15 y 19 U/ml.

### Análisis estadístico

Todos los resultados son expresados como media y desviación standard y/o mediana

# Diestro

Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>Ca<sup>++</sup>Li<sup>+</sup>

pH

**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](mailto:info@diestroweb.com) | [www.diestroweb.com](http://www.diestroweb.com)

CE

**IO Net**  
THE INTERNATIONAL CERTIFICATION NETWORK  
CERTIFICATE

con su rango intercuartílico (percentil 25-75) según corresponda y las variables categóricas como porcentajes. Utilizamos T test o Mann Whitney para comparar variables continuas y Chi cuadrado para las categóricas entre los grupos con anti-PLA2R positivos y negativos. Para analizar la relación entre anti-PLA2R y proteinuria utilizamos correlación bivariada de Pearson. La asociación con  $p < 0.05$  fue considerada estadísticamente significativa.

### >>> RESULTADOS

La edad media fue 53 años, 62,4% eran de sexo masculino, la creatinina al momento del estudio fue de 1(0.8-1.5) mg/dl, la albúmina sérica fue 2.84 g/dl y la proteinuria de 24 horas fue 4 (3.5-10) g/24 horas (**Tabla 1**). El 38,6% (39/101) fueron asistidos en el Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), mientras que 61,4% fueron derivados solo para realizar el dosaje de anti-PLA2R y eran seguidos en otra Institución. La manifestación inicial de la enfermedad se detalla en la (**Tabla 2**). De los 101 pacientes sobre los que dispusimos la información necesaria, 86 tuvieron una biopsia renal compatible con NM y 15 pacientes estaban siendo estudiados por síndrome nefrótico a los cuales se les solicitó el dosaje de anti-PLA2R. (**Diagrama 1**)

>> **Tabla 1.** Datos demográficos y de laboratorio

VARIABLE	n=101
Edad (años)	53,24 ± 17,5
Sexo masculino (%)	62,4
Creatinina sérica (mg/dl)	1 (0,8-1,5)
Albúmina sérica (g/dl)	2,84 ± 0,67
Proteinuria (g/24 horas)	4 (3,5-10)

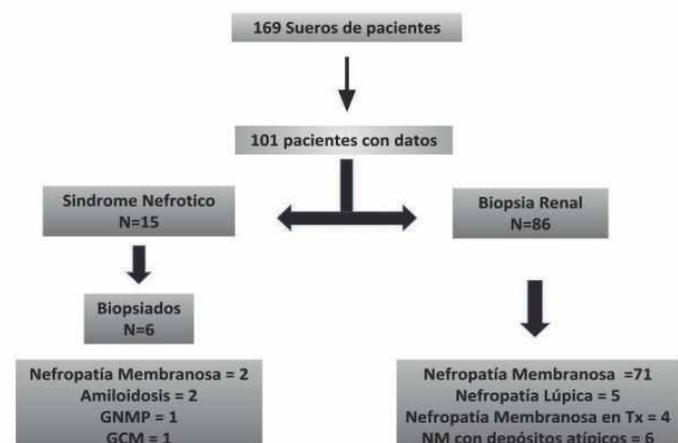
>> **Tabla 2.** Fenotipo Inicial de presentación: (n=101)

Fenotipo Inicial	N (%)
Síndrome nefrótico	76 (75,3)
Proteinuria nefrótica	13 (12,8)

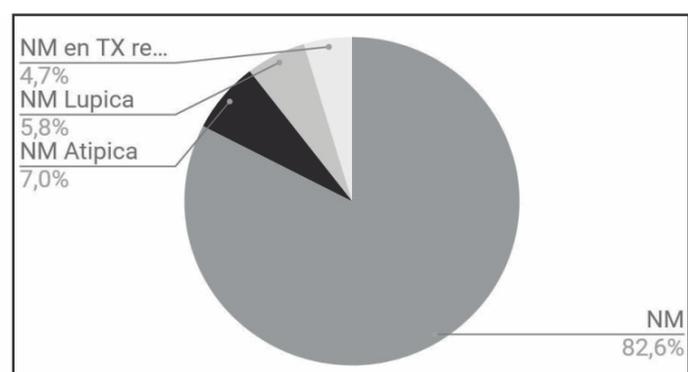
Proteinuria no nefrótica	4 (3,9)
Síndrome nefrótico en el embarazo	2 (1,9)
Síndrome nefrótico en trasplante renal	5 (4,9)
ERC evaluación pre TX	1 (1,0)

De los pacientes que tenían biopsia renal (n=86): 70 pacientes presentaban un fenotipo histológico de NM en la microscopía óptica, con depósitos granulares epimembranosos de IgG (es decir el patrón típico y esperable en las formas idiopáticas o primarias), 6 pacientes mostraron NM con algunas características inmunohistoquímicas atípicas (depósitos mesangiales, depósitos de IgA, C3 y C1q: 6,9%); 5 pacientes tenían NM lúpica y 5 pacientes tenían recidiva de una NM en un trasplante renal. (**Gráfico 1**)

>> **Diagrama 1.** Flujo de los pacientes que se realizaron una biopsia y los pacientes que tenían un síndrome nefrótico y se realizaron biopsia en diferido



>> **Gráfico 1.** Descripción de anatomía patológica, en los pacientes con biopsia renal, con patrón morfológico de NM

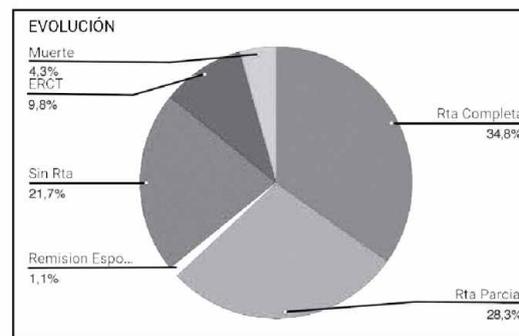


Respecto del tratamiento de los pacientes que tenían NM confirmada por biopsia (n=86) el 23,4% (n=20) recibía tratamiento conservador sin haber sido tratado con inmunosupresión; el 38,5% (n=33) había recibido tratamiento con ciclofosfamida y esteroides en meses alternos durante 6 meses, el 16,3% (n=14) recibió un inhibidor de la calcineurina (ciclosporina o tacrolimus), 2,3% (n=2) recibió tratamiento con clorambucilo y esteroides en meses alternos (ambos esquemas propuestos por Ponticelli, conocidos por el epónimo);<sup>(15)</sup> 5,8% (n=5) esteroides solos; 3,4% (n=3) rituximab, un paciente recibió hormona adrenocorticotropa (ACTH) subcutánea, 3 pacientes recibieron micofenolato mofetil, tacrolimus y esteroides, y 5 pacientes recibieron MMF y esteroides. La evolución luego del primer tratamiento se ilustra en el **Gráfico 2** y en la **Tabla 3**.

>> **Tabla 3.** Primer tratamiento realizado a los pacientes con NM confirmados por biopsia (n=86)

Tratamiento	N (%)
Tratamiento conservador	20 (23,4%)
Ciclofosfamida/Esteroides	33 (38,5%)
Clorambucilo/Esteroides	2 (2,3%)
Inhibidores de calcineurina (CSA-FK)	14 (16,3%)
Esteroides	5 (5,8%)
Rituximab	3 (3,4%)
MMF/Esteroides	5 (5,8%)
ACTH	1 (1,1%)
Esteroides/MMF/FK	3 (3,4%)

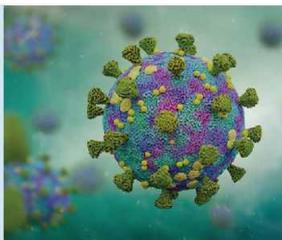
>> **Gráfico 2.** Evolución luego del primer tratamiento



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](http://www.etcint.com.ar)

De esta cohorte de pacientes con NM estudiada 26,7% (n=23) presentaron una recaída en algún momento de su evolución. En cuanto al tratamiento de las recaídas solo obtuvimos datos de 20 pacientes. (Tabla 4)

>> **Tabla 4.** Tratamiento de recaídas (n=20)

Tratamiento	Pacientes
Rituximab	9
EST/CFM	3
Ciclosporina	5
Tacrolimus	2
Esteroides	1

El dosaje de anti-PLA2R realizado a nuestra cohorte de 86 pacientes con NM fue procesado en diferentes momentos de la evolución de la enfermedad. La mediana del tiempo entre el primer dosaje de anti-PLA2R y la biopsia fue de 12,1 (2,8-45) meses. El mismo fue positivo en el 29% (n=25), dudoso en 5,8% (n=5) y negativo en 65,2% (n=56). La media y mediana del título de anticuerpos anti-PLA2 fueron de  $81,14 \pm 250$  UI/ml y 3 (2-31) UI/ml, respectivamente.

En el grupo de pacientes con síndrome nefrótico en estudio un paciente fue positivo y el resto tuvieron un dosaje negativo (n=14).

Dividimos a los pacientes en 2 grupos de acuerdo al resultado de Anti-PLA considerado positivo o negativo. No encontramos diferencias significativas entre ambos en cuanto a edad, sexo, valor de albúmina, creatinina plasmática y proteinuria (**Tabla 5**). Tampoco encontramos diferencias en cuanto al fenotipo de inicio de la enfermedad (dato no mostrado). En cuanto a la histología tampoco encontramos diferencias significativas.

Seleccionamos un subgrupo de pacientes cuyo primer dosaje de anti-PLA2R fue efectuado dentro de los 6 meses de realizada la biopsia. En este grupo (n=35) observamos que el dosaje fue positivo el 45,7% (n=16) y negativo en 54,3% (n=19). La proteinuria media fue 7,7 y 9 g/24 horas en los positivos y negativos respectivamente con una diferencia no significativa entre ambos grupos.

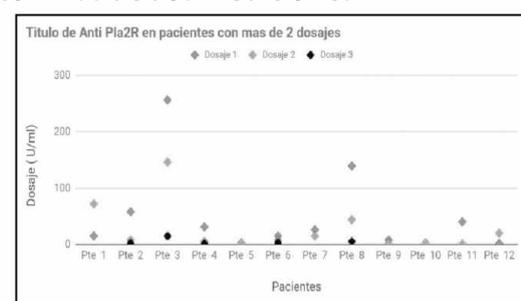
De los 86 pacientes que tenían NM a 12 de ellos se les realizó un segundo dosaje y sólo 5 tuvieron un tercer dosaje. De estos pacientes en 8 se observó un descenso en el título de anticuerpos en respuesta al tratamiento inmunosupresor (n=7) o con tratamiento conservador (n=1). En 2 pacientes el primer dosaje fue negativo y el segundo positivo consecuencia de una recaída con un tiempo medio de 18 meses entre ambos dosajes. En los 2 restantes se mantuvo negativo; eran pacientes en remisión en quienes se les solicitó la determinación como control de su enfermedad. (**Gráfico 3**)

>> **Tabla 5.** Comparación entre pacientes con dosajes de anti-PLA2R considerados negativos y positivos (n=81)

Variable	Positivo n=25 (30.9%)	Negativo n=56 (69.1%)	P
Edad (años)	54,9	50,3	0,238
Sexo masculino (%)	71	63,6	0,636
Albúmina sérica (g/L)	2,7	2,9	0,210
Creatinina sérica (mg/dl)	1 (0,8 -1,7)	1 (0,8- 1,5)	0,76
Proteinuria (g/día)	4 (3,5-10,7)	3,5 (3,3-8,1)	0,082
Histología:			
•NM (%)	93,5	81,8	0,117
•NM con depósitos atípicos (%)	3,2	9,1	
•NM lúpica (%)	0	9,1	
•NM en Tx renal (%)	3,2	0	

Se descartaron los que presentaban resultado dudoso. Se realizó un Chi cuadrado (no significativo) comparando la histología entre los pacientes que tenían anti-PLA2 positivos y negativos en 81 pacientes (se descartaron 5 porque tenían resultados dudosos). Respecto a la creatinina la misma está puesta en mediana con su rango intercuartil (25-75%).

>> **Gráfico 3.** Título de anticuerpos en pacientes con más de dos mediciones



# 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**

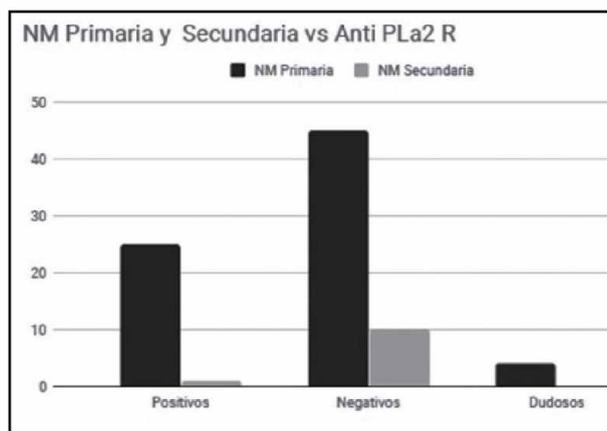
Av. Ing. Huergo 1437 P.B. "I" | C1107APB | CABA | Argentina | Tel./Fax: +5411 4300-9090  
info@biodiagnostico.com.ar | www.biodiagnostico.com.ar

En 8 pacientes se observa descenso del título de anticuerpo en respuesta al tratamiento. En 2 pacientes se observó elevación del título de anticuerpos por presentar recaída de la enfermedad. En dos pacientes se mantuvieron negativos. (**Gris Oscuro:** 1er dosaje; **Gris Claro:** 2do dosaje; **Negro:** 3<sup>er</sup> dosaje)

Se estudiaron 5 pacientes con trasplante renal que presentaron recidiva de NM en el injerto renal. De estos pacientes, uno tenía dosaje de anti-PLA2R positivo y tres fueron negativos y uno dudoso.

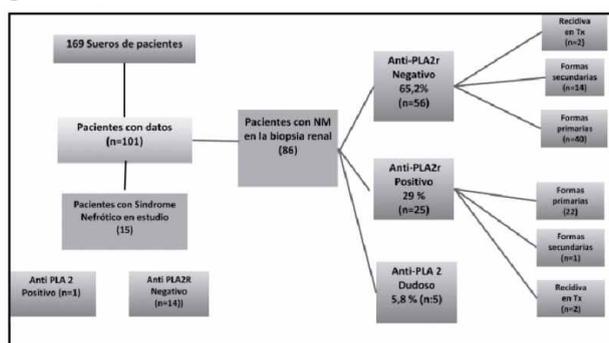
La comparación de los niveles de anti-PLA2R entre las formas de NM “primaria” y “secundaria” se detalla en el **Gráfico 4**.

**>>> Gráfico 4.** Correlación de formas primarias y secundarias con título de anticuerpos de Anti-PLA



Las distribución de los pacientes, según el dosaje de anti-PLA2R positivo, dudoso o negativo y la correlación con las formas clínicas de presentación se muestran en el **Diagrama 2**.

**>>> Diagrama 2.** Distribución de los pacientes según el dosaje de anti-PLA2R positivo, dudoso o negativo y las formas clínicas de presentación.



De los quince pacientes que se encontra-

ban en estudio por síndrome nefrótico solo uno tuvo dosaje positivo para anti-PLA2R. A seis pacientes de este grupo se les realizó biopsia renal en diferido, ósea luego de obtener el dosaje de Anti-PLA2. De los seis pacientes que se les realizó biopsia renal: dos tuvieron NM (en una paciente el dosaje fue positivo), dos pacientes presentaron amiloidosis, un paciente glomerulopatía a cambios mínimos y un paciente glomerulonefritis membranoproliferativa (GN).

El resto de los pacientes del grupo síndrome nefrótico en estudio, 9 pacientes, continuaban bajo seguimiento nefrológico, 4 de los cuales tenían diabetes y recibían tratamiento con inhibidores de la enzima de conversión (IECA) o bloqueantes de la angiotensina II (ARA II).

Si cambiamos el valor de corte del título de anti-PLA2 positivo > 2 U/ml y negativo < 2 U/ml como lo plantean algunos autores. Observamos que fueron positivos 53 pacientes (61,6%) y negativos 33 pacientes (38,3%).

**>>> DISCUSIÓN**

Se realizó un análisis retrospectivo de corte horizontal de pacientes con NM y de pacientes en estudio de síndrome nefrótico realizado desde que implementamos el método de ELISA para determinación de anticuerpos anti-PLA2R en CEMIC en julio del 2015.

El dosaje de anticuerpos se efectuó en 169 pacientes pero de éstos tuvimos acceso a datos de historia clínica, laboratorio, anatomía patológica, tratamiento y evolución de 101 pacientes (86 pacientes con biopsia renal con patrón de NM y 15 pacientes sin biopsia renal que cursan un síndrome nefrótico en estudio) y este hecho constituye una importante limitación para el análisis de los datos. La población estudiada de pacientes con NM fue muy heterogénea ya que el dosaje se realizó en diferentes momentos de su enfermedad, algunos pacientes estaban en remisión clínica y otros cursando una recaída o con el debut de su enfermedad.

Un 38,6% de la muestra eran pacientes en seguimiento en CEMIC. El resto de los pacientes (61,4%) correspondió a pacientes de quienes reci-

mos las muestras de suero para realizar el dosaje de anti-PLA2R y procedían de varios hospitales públicos y privados de toda Argentina razón por la cual no intervenimos en las indicaciones de tratamiento ni el momento de indicación del dosaje de anticuerpos.

Los resultados muestran menor positividad del anticuerpo que lo reportado en la bibliografía en la población con NM.<sup>(2)</sup> Cuando seleccionamos el grupo de pacientes con dosaje de anti-PLA2R y biopsias dentro de los seis meses el porcentaje de pacientes con dosaje positivo asciende pero no llega a ser cercano al 70% como reporta la bibliografía. Si tomamos los dosajes de anti-PLA2R > 2 UI/ml como positivos y de esta forma eliminamos los dosajes “dudosos” y algunos negativos el porcentaje de positividad asciende a 61,6%, como lo muestran Bobart *et al.* al tomar como positivo a un valor > a 2 UI por ELISA.<sup>(11)</sup>

Con respecto a la baja positividad obtenida aún en los casos casi con seguridad primarios o

idiopáticos interpretamos que los pacientes fueron estudiados tardíamente con respuesta clínica favorable o habiendo comenzado el tratamiento inmunosupresor o en el contexto de una respuesta completa. Es decir que no obtuvimos suero al inicio del cuadro clínico y que a muchos pacientes se les realizó el dosaje habiendo comenzado con tratamiento inmunosupresor o habiendo finalizado el mismo.

Así en aquéllos con sedimento blando, función renal normal, ausencia de diabetes o enfermedades sistémicas o infecciosas o antecedentes sugestivos de una posible neoplasia, un título inequívocamente positivo podría evitar una biopsia renal y permitir decisiones terapéuticas sobre la base exclusiva de la presentación clínica, el grupo etario, el género, negatividad para infecciones o enfermedades autoinmunes y comorbilidades. Esto es especialmente válido cuando la ecuación riesgo/beneficio no es clara. Si el título es positivo pero bajo se puede esperar a una respuesta espontánea.



**GLYMS®**

Información en tiempo real

## Software para laboratorios

- Ingreso de Órdenes 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) 2153-4460

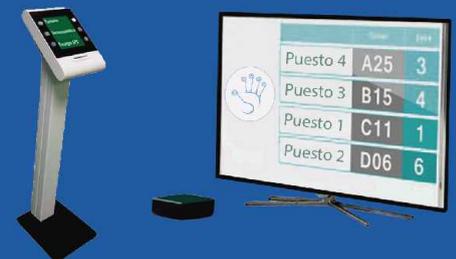
email: [administración@glyms.com](mailto:administración@glyms.com)

@glymssoftware

GLYM Software

[www.glyms.com.ar](http://www.glyms.com.ar)

### NUEVO SISTEMA TURNERO PARA LA ORGANIZACIÓN DE LOS PACIENTES DENTRO Y FUERA DEL LABORATORIO



¡Libere a los pacientes de las filas!

[www.sistemadefilas.com](http://www.sistemadefilas.com)



CONSÚLTENOS!

No observamos diferencias significativas entre pacientes con dosaje de anti-PLA2R positivo y negativo en el valor de proteinuria, albúmina, creatinina, fenotipo inicial y patrón anatómico-patológico.<sup>(15)</sup>

Con respecto a la histología observamos que subgrupo de pacientes tenían un patrón membranoso en la microscopía óptica pero en la inmunofluorescencia tenían depósitos de IgG, IgM, IgA, C3 y C1Q así como también depósitos mesangiales sin tener estigmas de enfermedad sistémica y sin serologías positivas para Lupus Eritematoso Sistémico. En este subgrupo sólo un 16,7% de los pacientes tuvieron un dosaje positivo. Quizá estas formas interpretadas inicialmente “secundarias” hoy día con el dosaje de anti-PLA2R corresponderían a formas “primarias”. El 83,3% tuvo un dosaje de anti-PLA2R negativo y en concordancia con los hallazgos de la inmunohistoquímica probablemente correspondan a formas secundarias.<sup>(13)</sup>

Los dosajes de Anti-PLA2R realizados en pacientes con NM lúpica fueron todos negativos al igual que en los pacientes que se biopsian en diferido en el grupo de síndrome nefrótico en estudio y presentaron otras glomerulopatías (amiloidosis, cambios mínimos y GN membranoproliferativa).

En los pacientes que tuvieron dos o más dosajes observamos la negatividad del título de anticuerpos en respuesta al tratamiento inmunosupresor o en el caso de remisión espontánea en un paciente en concordancia con la bibliografía.<sup>(14)</sup> En este grupo de pacientes todos aquéllos que presentaron una respuesta completa mostraron negatividad del anticuerpo. En dos pacientes se observó ascenso del título de anticuerpo por recaída de la enfermedad. Dos pacientes tuvieron dos mediciones negativas consecutivas, en las dos circunstancias con respuesta completa sostenida. Estos hallazgos relacionan el título de anticuerpos con la actividad de la enfermedad y es de utilidad para predecir respuestas terapéuticas. Así mismo la bibliografía coincide con nuestros hallazgos en que el título es mucho menor en pacientes inactivos o con remisiones parciales, tratados o no.<sup>(15-19)</sup>

En cuanto al tratamiento indicado solo en los pacientes que tenían un seguimiento en CEMIC la decisión terapéutica fue evaluada y discutida por nosotros y se correspondió con guías y pautas internacionalmente aceptadas. En el resto de los pacientes la decisión terapéutica fue tomada por cada nefrólogo y basada en los recursos disponibles según el medio socioeconómico.

No es esta una prueba 100% específica, como lo explicamos anteriormente tiene una especificidad del 90% y una sensibilidad del 70%. Por otra parte en general las que los son es porque su positividad forma parte de los criterios diagnósticos. Es sabido que algunas formas secundarias son positivas tanto en lupus, hepatitis B y sarcoidosis.

Finalmente la interpretación de nuestros resultados y la discusión precedente deben ser vistas a la luz de ciertos fenómenos claves en la cronología de esta enfermedad. La sensibilidad de la prueba depende en alguna medida de la etnicidad de la población, del método de laboratorio usado – Western blot, inmunofluorescencia indirecta, ELISA– pero sobre todo de la biología de esta enfermedad. Existe un retardo entre el depósito de anticuerpos en el tejido renal, la seropositividad y la actividad clínica. En el comienzo de la enfermedad cuando la producción de anticuerpos recién comienza, ya hay cambios estructurales en el glomérulo, depósitos de inmunoglobulinas y presencia del antígeno PLA2R en la biopsia pero todavía no existe un daño podocitario marcado, consecuentemente no hay proteinuria o es mínima y, muy especialmente, no hay anticuerpos circulantes detectables. Han sido atrapados por el riñón actuando como lo que algunos con el fin de ser gráficamente denominan una “pileta de cocina”.<sup>(20)</sup> Por esta razón la detección del antígeno en tejido renal, procedimiento más laborioso y caro, que además demanda disponer de una biopsia es indispensable si se desea conocer con precisión la situación patogénica de un paciente determinado.

A medida que la enfermedad avanza el tejido renal se satura y el paciente se convierte en seropositivo. En el proceso de remisión de la enfermedad se recorre el camino inverso: el título cae pero pueden persistir los depósitos de inmunoglobulinas en el riñón y sobre todo de expresión

DICEN QUE  
**EL** EURO **2020**  
 FUE UN  
 AÑO DE   
**POR ESO EN 2021**  
 NOS DEDICAREMOS  
**A ESTUDIARLA**

## Sentinel FOB Gold®

Solución Única y Completa para Detección **Automatizada** de **Sangre Oculta** en **Materia Fecal**

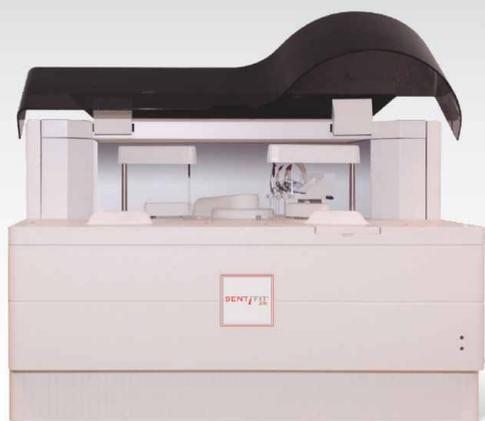


Tubos de diseño patentado "2 en 1"

- 1- Recolección de heces en forma sencilla.
- 2- Análisis directamente desde el tubo, para cualquier autoanalizador de química clínica.

**SENTiFIT® pierceTube:** Tubo perforable, para uso en el sistema SENTiFIT 270®

**FOB Gold® Tube Screen:** Tubo universal, compatible con todos los analizadores de química clínica y el sistema SentiFOB®



### SENTiFIT 270®

- Sistema totalmente automatizado de alta velocidad.
- Tubos perforables patentados, que se cargan directamente en el equipo.
- Sistema higiénico y seguro para el usuario.
- Reactivo de látex inmunoturbidimétrico de última generación para la determinación **cuantitativa** de sangre oculta en heces.

Estomba 961 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
 Argentina -Tel:+5411 4555 4601  
 Mail: [pl@bioars.com.ar](mailto:pl@bioars.com.ar)  
 Web: [www.bioars.com.ar](http://www.bioars.com.ar)



**ba**  
 bioars

**SENTINEL**  
 DIAGNOSTICS

del PLA2R, que es el último fenómeno en desaparecer: primero cae el título de anticuerpos, después la proteinuria y finalmente desaparecen los depósitos de PLA2R en la biopsia. Es en esta situación donde nosotros consideramos debe usarse el término “remisión completa”, y preferimos utilizar “respuesta completa” cuando la proteinuria y la albúmina se han normalizado.

Como mencionamos anteriormente creemos que, a la luz de la fisiopatogenia de esta enfermedad, es altamente conveniente el uso adecuado del título de Anti-PLA2R para que contribuya al diagnóstico y la terapéutica. Es decir usar esta prueba de laboratorio con objetivos precisos: para diagnóstico de NM idiopática de modo no invasivo; para excluir formas secundarias de NM; para anticipar respuestas o recaídas y como guía para adoptar decisiones terapéuticas.<sup>(21)</sup>

### >>> CONCLUSIONES

La positividad del título de anti-PLA2R en nuestra población con NM es inferior en al reportado en la literatura. El alto porcentaje de pacientes con títulos negativos probablemente se vincule a inactividad o al tratamiento recibido con citotóxicos.

### >>> ANEXO

**Síndrome nefrótico:** pacientes con proteinuria > 3,5 g/día y que tenían además edemas e hipoalbuminemia definida por albúmina sérica menor a 3,5 g/dl.

**Proteinuria nefrótica:** pacientes que solo tenían proteinuria > a 3,5 g/día en ausencia de síndrome nefrótico clínico.

**Proteinuria no nefrótica:** pacientes que tenían valores de proteinuria < 3,5 g/día.

**Screening de síndrome nefrótico:** pacientes que tenían un síndrome nefrótico y se le realizó dosaje de anti-PLA2R para evaluar la necesidad de biopsia renal.

**Enfermedad renal crónica:** anormalidades en la estructura o función del riñón, por más de tres meses con implicancias para la salud.

**Pérdida de seguimiento:** pacientes a los que su nefrólogo de cabecera no volvió a ver una vez obtenido el resultado de anti-PLA2R.

**Respuesta completa:** pacientes con proteinuria < 500 mg/día luego del tratamiento inmunosupresor.

**Respuesta parcial:** pacientes con proteinuria < 3,5 g/día previamente al tratamiento inmunosupresor y que fue < a 3,5 g/día luego del mismo.

**Respuesta espontánea:** pacientes con síndrome nefrótico que presentaron valores de proteinuria < 500 mg/día sin haber recibido tratamiento inmunosupresor.

**Enfermedad renal crónica terminal (ERC-T):** pacientes en estadio 5 (tasa de filtración glomerular estimada < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)

**Tratamiento conservador:** los pacientes que fueron tratados con inhibidores de la enzima de conversión (IECAs) o antagonistas o bloqueadores del receptor AT1 de la ARA II, o ambos combinados, estatinas y/o aspirina, pero no medicación inmunosupresora.

**NM “secundaria”:** cuando está relacionado a otras patologías como enfermedades autoinmunes, infecciosas o tumorales.

**NM “primaria” o “idiopática”:** el diagnóstico se hace por exclusión de causas secundarias.

**Agradecimientos:** Al Hospital Italiano de Buenos Aires, Hospital El Cruce, Hospital Argerich, Hospital de Clínicas José de San Martín, Hospital Churruca Vizca, Nephrology, Hospital Santojanni, Hospital Fernández y Hospital Durand, que nos derivaron pacientes incorporados al presente estudio.

### >>> BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ronco P, Debiec H. Avances patofisiológicos en la nefropatía membranosa: es hora de un cambio en la cuidado. *Lancet*. 2015;385(9981):1983-92. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60731-0.
- 2) Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, et al. Receptor de fosfolipasa A2 de tipo M como antígeno objetivo en la nefropatía membranosa idiopática. *N Engl J Med*. 2009;361(1):11-21. doi: 10.1056/NEJMoa0810457.
- 3) Tomas NM, Beck LH Jr, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, et al. Thrombospondin type-1 domain containing 7A in

idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med.* 2014;371(24):2277-87. doi:10.1056/NEJMoa1409354.

4) Sethi S, Debiec H, Madden B, Charlesworth MC, Morelle J, Gross LA, et al. Neural epidermal growth factor-like 1 protein (NELL-1) associated membranous nephropathy. *Kidney Int.* 2020;97(1):163-74. doi:10.1016/j.kint.2019.09.014.

5) Hihara K, Iyoda M, Tachibana S, Iseri K, Saito T, Yamamoto Y, et al. Expresión del anticuerpo del receptor de la antifosfolipasa A2 (PLA2R) y del glomerular PLA2R en pacientes japoneses con nefropatía membranosa. *PLoS Uno.* 2016;11(6):e0158154. doi:10.1371/journal.pone.0158154.

6) Beck LH Jr, Salant DJ. Nefropatía membranosa: de los modelos al hombre. *J Clin Invest.* 2014;124(6):2307-14. doi:10.1172/JCI72270.

7) Cravedi P, Abbate M, Gagliardini E, Galbusera M, Buelli S, Sabadini E, et al. Membranous nephropathy associated with IgG4-related disease. *Am J Kidney Dis.* 2011;58(2):272-5. doi:10.1053/j.ajkd.2011.05.002.

8) Francis JM, Beck LH Jr, DJ de Salant. Nefropatía membranosa: un viaje desde el banco hasta la cama. *Am J Kidney Dis.* 2016;68(1):138-47. doi:10.1053/j.ajkd.2016.01.030.

9) Xie Q, Li Y, Xue J, Xiong Z, Wang L, Sun Z, et al. Receptor de la fosfolipasa renal A2 en la nefropatía membranosa asociada al virus de la hepatitis B. *Am J Nephrol.* 2015;41(4-5):345-53. doi:10.1159/000431331.

10) Stehlé T, Audard V, Ronco P, Debiec H. Receptor de la fosfolipasa A2 y nefropatía membranosa asociada a la sarcoidosis. *Transplante de Nephrol Dial.* 2015;30(6):1047-50. doi:10.1093/ndt/gfv080.

11) Bobart SA, De Vriese AS, Pawar AS, Zand L, Sethi S, Giesen C, et al. Noninvasive diagnosis of primary membranous nephropathy using phospholipase A2 receptor antibodies. *Kidney Int.* 2019;95(2):429-38. doi:10.1016/j.kint.2018.10.021.

12) Hofstra JM, Debiec H, Short CD, Pellé T, Kleta R, Mathieson PW, y otros. Título de anticuerpos del receptor de la fosfolipasa A2 y subclase en la nefropatía membranosa idiopática. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(10):1735-43.

doi:10.1681/ASN.2012030242.

13) Jiang Z, Cai M, Dong B, Yan Y, Yang Y, Wang M, y otros. Características clínico-patológicas de la nefropatía membranosa atípica de etiología desconocida en pacientes adultos chinos. *Medicina (Baltimore).* 2018;97(32):e11608. doi:10.1097/MD.00000000000011608

14) Díaz M, Agraz I, Soler MJ. Anticuerpo del receptor de la antifosfolipasa A2 y remisión espontánea en la nefropatía

membranosa. *Clin Kidney J.* 2019;12(1):33-5. doi:10.1093/ckj/sfy079.

15) Fervenza FC, Appel GB, Barbour SJ, Rovin BH, Lafayette RA, Aslam N, et al. Rituximab o ciclosporina en el tratamiento de la nefropatía membranosa. *N Engl J Med.* 2019;381(1):36-46. doi:10.1056/NEJMoa181442.

16) Dahan K, Debiec H, Plaisier E, Cachanado M, Rousseau A, Wakselman L, et al. Rituximab para la nefropatía membranosa grave: un ensayo de seis meses con un seguimiento prolongado. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28(1):348-58. doi:10.1681/ASN.2016040449.

17) Wu X, Liu L, Guo Y, Yang L. Valor clínico de un anticuerpo anti-PLA2R en suero en el diagnóstico y la monitorización de la nefropatía membranosa primaria en adultos. *Int J Nephrol Renovasc Dis.* 2018;11:241-7. doi:10.2147/IJNRD.S176665.

18) Ruggenti P, Debiec H, Ruggiero B, Chianca A, Pellé T, Gaspari F, et al. El título del anticuerpo del receptor de la antifosfolipasa A2 predice el resultado de la nefropatía membranosa después del rituximab. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(10):2545-58. doi:10.1681/ASN.2014070640.

19) Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM, Bonegio RG, Malik FA, Erickson SB, y otros. La reducción inducida por el rituximab de los autoanticuerpos anti-PLA2R predice la respuesta en la nefropatía membranosa. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(8):1543-50. doi:10.1681/ASN.2010111125.

20) Bomback AS. Manejo de la nefropatía membranosa en la era PLA2R. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13(5):784-86. doi:10.2215/CJN.12461117.

21) García-Vives E, Solé C, Moliné T, Alvarez-Ríos AM, Vidal M, Agraz I, et al. Anticuerpos contra el receptor de fosfolipasa A2 tipo M (PLA2R) en la nefritis lúpica membranosa. *Lupus.* 2019;28(3):396-405. doi:10.1177/0961203319828521.

Traducción realizada con la versión gratuita del traductor [www.DeepL.com/Translator](http://www.DeepL.com/Translator) ■

# MEG@NALIZAR

Tecnología y Calidad al servicio de la Salud

## ● Serología

- Endocrinología ● Química Clínica ● Marcadores Tumorales ● Marcadores Virales
- Hematología ● Inmunología ● Drogas Anticonvulsiantes ● Inmunosupresores

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





# Hiperpigmentación cutánea secundaria a déficit de vitamina B12 en un lactante

>>> La pigmentación cutánea depende de la cantidad de melanina presente, regulada, por la actividad enzimática de la tirosinasa. El mecanismo exacto de hiperpigmentación por carencia de vit. B12 es desconocido, y se plantean varias hipótesis. A continuación, una paciente lactante con diagnóstico de hiperpigmentación cutánea secundaria a déficit de vitamina B12.

## >>> AUTORES

Dra. María C. Viada Pelaez<sup>a</sup>, Dra. María M. Buján<sup>a</sup> y Dra. Andrea B. Cervini<sup>a</sup>

## >>> CORRESPONDENCIA:

Dra. María C. Viada Pelaez:  
Email: candeviada@hotmail.com

a. Servicio de Dermatología, Hospital Nacional de Pediatría “Prof. Dr. Juan P. Garrahan”, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

**Cómo citar:** Viada Pelaez MC, Buján MM, Cervini AB. Hiperpigmentación cutánea secundaria a déficit de vitamina B12 en un lactante. *Arch Argent Pediatr* 2020;118(1):e63-e66.

## >>> RESUMEN

La hiperpigmentación cutánea es una manifestación clínica poco frecuente del déficit de vitamina B12 (cobalamina). Su causa no se conoce con exactitud, y existen varias teorías en su etiopatogenia.

Se presenta a una niña de 8 meses de edad, con antecedentes de retraso neuromadurativo, hipotonía, anemia y neutropenia, derivada a nuestro Servicio por hiperpigmentación cutánea del dorso de las manos y los pies de 3 meses de evolución. Ante la sospecha clínica de déficit de vitamina B12, se realizó un análisis de laboratorio, en el que se constató una marcada disminución de los niveles séricos de cobalamina, por lo que se indicó tratamiento sustitutivo con esta.

Se destaca la importancia de la presunción diagnóstica de déficit de vitamina B12 como causa de hiperpigmentación cutánea y su resolu-

## SOLUCIÓN TOTAL PARA EL DIAGNÓSTICO DE COVID-19

### STANDARD Q



PROXIMAMENTE!

**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% CI 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.



PROXIMAMENTE!

**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



PROXIMAMENTE!

**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

### 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.

ción luego de la instauración del tratamiento adecuado.

**Palabras clave:** vitamina B12, deficiencia, hiperpigmentación, hipovitaminosis, niños.

## >>> INTRODUCCIÓN

La vitamina B12 (vit. B12) o cobalamina pertenece al grupo de las vitaminas hidrosolubles y es responsable de numerosas funciones metabólicas, ya que es un cofactor esencial en la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN).<sup>1</sup> El organismo humano no es capaz de sintetizarla y debe obtenerla de la dieta, principalmente, de alimentos de origen animal (carne, leche, huevos y pescado).

La deficiencia de vit. B12 fue descrita por primera vez por Cook en 1944 y luego por Baker y col., en 1963.<sup>2</sup> Se manifiesta, sobre todo, con compromiso hematológico, neurológico y, rara vez, cutáneo. En cuanto a lo hematológico, la alteración más frecuente es la anemia megaloblástica. El compromiso neurológico es causado por alteraciones en la formación de mielina; clínicamente, pueden presentar apatía, rechazo alimentario, regresión del desarrollo psicomotor o diversas neuropatías.<sup>1</sup> Dentro de las manifestaciones cutáneas, se han descrito hiperpigmentación, glositis, alteraciones ungueales y canicie precoz. La hiperpigmentación suele verse más acentuada en las extremidades, sobre todo, en el dorso de las manos y los pies, las áreas de flexión y, menos frecuentemente, en las uñas, la lengua o la mucosa oral.<sup>3</sup> Su causa no se conoce con exactitud, aunque se atribuye a la depleción de glutatión, implicado en la inhibición de la síntesis de melanina.<sup>4</sup>

Se presenta a una niña de 8 meses de edad con compromiso hematológico, neurológico y manifestaciones cutáneas secundarias al déficit de vit. B12.

## CASO CLÍNICO

Paciente de sexo femenino de 8 meses de edad, nacida a término, con peso adecuado para la edad gestacional, sin antecedentes familiares patológicos, internada en nuestro Hospital por anemia megaloblástica (hemoglobina -Hb-: 8,6

g/dl/volumen corpuscular medio -VCM-: 95 fL) y neutropenia (880 neutrófilos totales y 4660 leucocitos). Además, presentaba hipotonía, mala actitud alimentaria y retraso neuromadurativo (no sedestación), por lo que realizaba estimulación temprana.

Fue derivada al Servicio de Dermatología por presentar hiperpigmentación homogénea en el dorso de las manos y en la región distal de los pies de 3 meses de evolución. Según la referencia materna, dichas lesiones habían sido de presentación progresiva, sin fenómenos inflamatorios previos.

Al momento del examen físico, se observaba una hiperpigmentación homogénea de coloración negro parduzco, bien delimitada, que comprometía las muñecas y el dorso de ambas manos, de disposición “en guantes” (Figura 1). Además, en la región distal de los dedos de los pies, con predominio en el *hallux* derecho, presentaba una discreta hiperpigmentación (Figura 2). No se observaban lesiones en el resto del tegumento. Cabe destacar que la niña no presentaba máculas hiperpigmentadas en la lengua y en la cavidad oral ni hiperpigmentación ungueal.

A fin de descartar el déficit de vit. B12, se solicitó un análisis de laboratorio, en el que se constató una marcada disminución de los niveles séricos de esta (dosaje de 84 pg/ml para un valor normal de 227-1508 pg/ml). La paciente recibió tres dosis de vit. B12 a razón de 1 mg/ kg/día intramuscular, en días consecutivos y luego tres dosis sustitutivas intramusculares de ácido fólico y complejo de vitaminas B cada 48 horas. En la evaluación ambulatoria, a las tres semanas de haber iniciado el tratamiento, se observó un ligero aclaramiento de las lesiones hiperpigmentadas, así como una franca mejoría de la actitud alimentaria e hipotonía previa. La paciente no regresó a los controles programados en este Hospital.

## >>> DISCUSIÓN

La prevalencia de la hipovitaminosis B12 varía según el grupo etario y es más alta en los niños, en comparación con la población general. Sin embargo, la deficiencia de dicha vitamina no es de conocimiento común en pediatría.<sup>1</sup>

Las principales causas de deficiencia de vitamina B12 se pueden dividir en tres grupos: bajo aporte exógeno, mala digestión y malabsorción.<sup>5,6</sup> El bajo aporte se ve, principalmente, en los pacientes con dieta vegetariana. En el caso de nuestra paciente, si bien su madre tenía una alimentación variada y no vegetariana, refería que la niña tenía mala actitud alimentaria, con baja ingesta de alimentos de origen animal y que se alimentaba, sobre todo, con lactancia materna, por lo que la hipovitaminosis podría ser secundaria al bajo aporte exógeno de dicha vitamina.

Dentro de las patologías asociadas con la mala digestión de vit. B12, se encuentran la gastritis atrófica, la aclorhidria y la gastrectomía. Con respecto a las causas de mala absorción, el ejemplo clásico es la anemia perniciosa, en la que las células parietales gástricas son destruidas por autoanticuerpos, por lo que se produce una deficiencia del factor intrínseco que estas secretan. Debido a que, para la absorción de esta vitamina, es indispen-

sable su unión al factor intrínseco, la disminución de este lleva al déficit de vit. B12. Otras causas de malabsorción son las secundarias a resecciones o patologías del íleon y al uso de fármacos que interfieren en la absorción de la vitamina, como omeprazol o metformina.<sup>5</sup>

>> **Figura 1.** Paciente con fototipo III, con hiperpigmentación homogénea en el dorso de las manos y los dedos. Sin compromiso ungueal



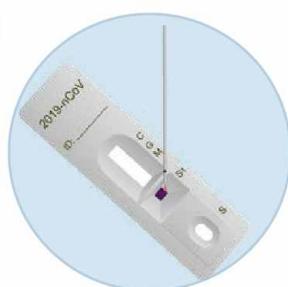
# COVID-19

Test rápido combo IgG/IgM



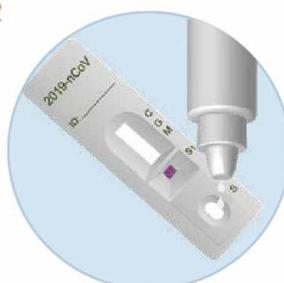
De fácil uso, en solo 3 pasos:

1



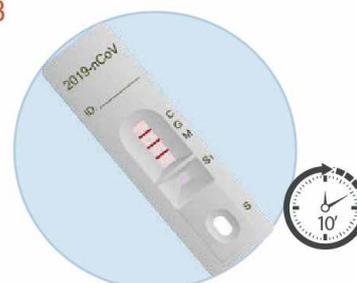
Agregar 2µL de muestra de sangre en área "S1" según se observa en la figura.

2



Adicionar 2 gotas de buffer a la celda denominada "S".

3



Leer el resultado a los 10 minutos. No leer pasados los 15 minutos. En la zona de lectura se visualizarán las siglas C (control), G (IgG) y M (IgM)

-PROCEDIMIENTO SENCILLO SIN EQUIPAMIENTO.  
-DETECTA DIFERENTES ESTADIOS DE LA ENFERMEDAD.

-ELEVADA ESPECIFICIDAD, SENSIBILIDAD Y PRECISIÓN.  
-ORIGEN: ALEMANIA

Desde el punto de vista clínico, el déficit de vit. B12 se puede evidenciar a través de alteraciones neurológicas, hematológicas y cutáneas. El compromiso neurológico se manifiesta con diversos síntomas, como rechazo alimentario, apatía, regresión del desarrollo psicomotor, neuropatía motora y desórdenes neuropsiquiátricos, los cuales pueden ser irreversibles.<sup>1</sup> Con respecto al compromiso hematológico, la anemia megaloblástica es la alteración más frecuente y se produce por una asincronía entre la maduración del núcleo del eritrocito y su citoplasma. Dentro de las manifestaciones mucocutáneas, se encuentran la hiperpigmentación y la glositis; esta última, caracterizada por enantema y dolor.<sup>1</sup> La hiperpigmentación se caracteriza por ser de coloración negro parduzco, afectar, principalmente, sitios fotoexpuestos, como el dorso de las manos y los pies, y por ser reversible una vez instaurado el tratamiento.<sup>7,8</sup>

La pigmentación cutánea dependerá de la cantidad de melanina presente, que está regulada, sobre todo, por la actividad enzimática de la tirosinasa.<sup>9</sup> El mecanismo exacto de hiperpigmentación por carencia de vit. B12 es desconocido, y se plantean varias hipótesis.<sup>2</sup>

>> **Figura 2.** Hiperpigmentación en la región distal de los dedos del pie derecho con predominio en el hallux



Entre ellas, las siguientes: 1) Los pacientes con déficit de vit. B12 tienen niveles bajos de glutatión intracelular. Estos llevan a un aumento en la actividad de la tirosinasa y, en consecuencia, se produce mayor melanogénesis.<sup>2</sup> 2) Otra de las hipótesis planteadas por Grieppe describe la

influencia de la biopterina, una sustancia necesaria para la hidroxilación de la fenilalanina. Esta tiene un rol en la síntesis de melanina, por lo que niveles elevados de esta sustancia podrían explicar la hiperpigmentación. 3) Por último, Marks hace referencia a que habría un cambio en la distribución de la melanina y afirma que, en las anemias megaloblásticas, existiría un defecto en el transporte o incorporación de la melanina dentro de los queratinocitos, lo que ocasionaría, en los pacientes, incontinencia pigmentaria.<sup>10,11</sup>

Ante la sospecha clínica de un paciente con deficiencia de vit. B12, la anamnesis debe incluir preguntas acerca de enfermedades digestivas, cirugías intestinales y hábitos dietarios, ya que podrían ser factores de riesgo para presentar la hipovitaminosis.<sup>6</sup> Además, se debe hacer un examen físico minucioso en busca de las manifestaciones clínicas previamente mencionadas.<sup>6</sup> El diagnóstico se realiza mediante la determinación de niveles séricos de vit. B12; esta prueba es accesible y económica.<sup>5</sup> La sensibilidad varía entre un 65 % y un 95 %. Sin embargo, cuando existe discordancia entre el aspecto clínico y el análisis de laboratorio, se pueden realizar pruebas más sensibles, como la cuantificación del ácido metilmalónico y homocisteína. Ambos se encuentran aumentados ante el déficit de vit. B12 y avalan el diagnóstico con contundencia.<sup>5,6</sup>

Dentro de los diagnósticos diferenciales para tener en cuenta ante la presencia de hiperpigmentación en las zonas acrales o flexurales, hiperpigmentación en la mucosa oral o melanoniquia, se encuentran la diabetes *mellitus*, enfermedad de Addison, síndrome de Cushing, depósito de metales pesados, porfirias, alteraciones tiroideas, lesiones residuales posinflamatorias, entre otras, aunque la mayoría de estas entidades presentan hiperpigmentación generalizada.

El tratamiento consiste en la administración de vit. B12, ya sea por vía oral, intravenosa o intramuscular, según la tolerancia del paciente.<sup>10</sup> En general, y debido al rechazo alimentario descrito, como sucedió en nuestra paciente, se recomienda iniciar el tratamiento por vía parenteral.<sup>1</sup> En el caso presentado, debido a la mala actitud alimentaria de la paciente, se medicó, inicialmente, con vit. B12 intramuscular a razón de 1 mg/kg/día

por 3 días consecutivos y continuó luego cada 48 horas, con el suplemento con ácido fólico y complejo vitamínico B. Después de la terapéutica adecuada, los cambios hematológicos y cutáneos suelen revertirse; sin embargo, el daño neurológico puede ser permanente.<sup>12</sup> El pronóstico a largo plazo se relaciona con la gravedad y la duración de la hipovitaminosis, por lo que es importante un alto índice de sospecha para un diagnóstico y tratamiento temprano.

Se presenta a una niña con hiperpigmentación acral como manifestación infrecuente del déficit de vit. B12. Se recalca la importancia de la pesquisa vitamínica frente a un paciente con hiperpigmentación acral, que permite un abordaje terapéutico oportuno y evita los daños neurológicos irreversibles que estos pacientes pudiesen presentar.

**Financiamiento:** Ninguno.

**Conflicto de intereses:** Ninguno que declarar.

## >>> REFERENCIAS

1. Bravo P, Ibarra J, Paredes M. Compromiso neurológico y hematológico por déficit de vitamina B12 en lactante hijo de madre vegetariana. Caso Clínico. *Rev Chil Pediatr.* 2014; 85(3):337-43.
2. Barboza J, Bravo F, Beltrán G. Hiperpigmentación por deficiencia de vitamina B12. *Folia Dermatol Peru.* 2006;17(3):145-8.
3. Marks VJ, Briggaman RA, Wheeler CE Jr. Hyperpigmentation in megaloblastic anemia. *J Am Acad Dermatol.* 1985; 12(5 Pt 2):914-7. 4. García Villa A, Cabañuz C. Hiperpigmentación cutánea en el déficit de vitamina B12. *Rev Clin Esp.* 2018; 218(2):108-9.
5. Mariño Suárez JE, Monedero Recuero I, Peláez Laguno C. Deficiencia de vitamina B 12 y tratamiento por vía oral. Una opción tan eficaz como (todavía) poco utilizada. *Aten Prim.* 2003; 32(6):382-7.
6. Schrier SI. Clinical manifestations and diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. Up To Date. [Acceso: 13 de julio de 2019]. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-vitamin-b12-and-folate-deficiency>.
7. Jithendriya M, Kumaran S, Bhat PI. Addisonian pigmentation and vitamin B<sub>12</sub> deficiency: a case series and review of the literature. *Cutis.* 2013; 92(2):94-9.
8. Diwan AG, Dave P, Barsode S, Inamdar M, et al. Reversible Cutaneous Hyperpigmentation in Vitamin B12 Deficiency. *J Assoc Physicians India.* 2016; 64(3):74.
9. Takeichi T, Hsu CK, Yang HS, Chen HY, et al. Progressive hyperpigmentation in a Taiwanese child due to an inborn error of vitamin B12 metabolism. *Br J Dermatol.* 2015; 172(4):1111-5.
10. Vera-Kellet C, Andino-Navarrete R, Navajas-Galimany L. Déficit de vitamina B12 y sus diversas manifestaciones dermatológicas. *Actas Dermosifiligr.* 2015; 106(9):762-4.
11. Agrawala R, Sahoo S, Choudhury A, Mohanty BK, et al. Pigmentation in vitamin B12 deficiency masquerading Addison's pigmentation: A rare presentation. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013; 17(Suppl1):S254-6.
12. Arora AK, Saini SS, De D, Handa S. Reticulate pigmentation associated with vitamin B12 deficiency. *Indian Dermatol Online J.* 2016; 7(3):215-7.

**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](mailto:info@avan.com.ar) - [www.avan.com.ar](http://www.avan.com.ar)

# Clonación de secuencias de plasmodium para su uso como controles en el diagnóstico molecular

>>> Las técnicas moleculares son un avance importante para los laboratorios en los cuales se realiza diagnóstico y/o investigación de enfermedades. El uso de técnicas basadas en la amplificación de ADN como la PCR y sus variantes, son utilizadas en el diagnóstico por su alta sensibilidad y especificidad. En la siguiente investigación se estudia la clonación de secuencias de Plasmodium para su uso como controles en el diagnóstico molecular.

## >>> AUTORES

César Pacheco<sup>1</sup>, Elizabeth Ferrer<sup>1,2\*</sup>, Flor Herrera<sup>1</sup>

Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, <sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas Dr. Francisco J. Triana Alonso (BIO-MED), <sup>2</sup>Departamento de Parasitología, Maracay, Venezuela

## >>> CORRESPONDENCIA

Elizabeth Ferrer  
E-mail: elizabeth.ferrer@gmail.com

## >>> RESUMEN

Las técnicas moleculares son un gran avance para el diagnóstico de malaria, pero se

requiere disponer de controles positivos adecuados, por lo que el objetivo del presente trabajo fue obtener secuencias clonadas de *Plasmodium vivax* y *P. falciparum* para su uso como controles en la técnica de PCR para el diagnóstico de malaria. A partir de ADN extraído de muestras de pacientes infectados, se amplificaron por PCR las secuencias codificantes del ARN ribosomal de la subunidad pequeña de *P. vivax* y *P. falciparum*. Se purificaron las bandas de 120 pb y 205 pb, respectivamente, a partir de gel de agarosa, y se realizaron las ligaciones con el vector de clonación pGEM-T-Easy. Se transformaron células competentes de *E. coli* XL1Blue MRF<sup>-</sup> con las mezclas de ligación. Posteriormente, se identificaron las colonias recombinantes mediante PCR de colonias, de las cuales se extrajo el ADN plasmídico para la verificación de la clonación de los fragmentos y se utilizaron como controles en la PCR. Se obtuvieron 5 colonias

*Desde siempre enfocados en la lucha  
contra el vector Aedes Aegypti*

# DENGUE

## TEST RÁPIDO



### OnSite® Dengue Ag Rapid Test

Inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno NS1 del dengue (DEN1, 2, 3, 4) en suero, plasma o sangre entera



### ONE STEP Anti-Dengue (IgM & IgG) Tri-line Test

Ensayo inmunocromatográfico rápido realizado con oro coloidal, para la detección cualitativa de anticuerpos (IgM e IgG) contra el virus del dengue (DV) en sangre total humana, suero o plasma.

## ELISA



DENV Detect™ IgM Capture ELISA, kit x 96 det  
DENV Detect™ IgG Capture ELISA, kit x 96 det  
DENV Detect™ NS1 ELISA, kit x 96 det



**CROMOION**  
ABASTECIMIENTO INTEGRAL HOSPITALARIO  
División Diagnóstico - Biología Molecular

Central: Oporto 6125 - Ciudad de Buenos Aires - Argentina  
Planta Elaboradora Punta Alta, Prov. de Buenos Aires  
mail: [reporte@cromoion.com](mailto:reporte@cromoion.com)  
[www.cromoion.com](http://www.cromoion.com)  
Tel: +54 11 4644-3205/06

recombinantes de *P. vivax* y 12 de *P. falciparum* de las cuales se extrajo ADN plásmidico. Se utilizaron los ADN plasmídicos como controles de reacción en la técnica de PCR de diagnóstico de malaria, obteniéndose las bandas diagnósticas características en todos los casos. La clonación de las secuencias codificantes del ARN ribosomal de la subunidad pequeña de *P. vivax* y *P. falciparum*, permitió su uso como controles positivos en el diagnóstico molecular de malaria, lo cual evita la dependencia de muestras positivas que generalmente presentan variabilidad.

**Palabras clave:** *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*, PCR, malaria.

## >>> INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad producida por parásitos del género *Plasmodium* transmitida por la picadura de mosquitos del género *Anopheles*. Hay cinco especies de *Plasmodium* que causan malaria en el humano, siendo las más frecuentes *Plasmodium vivax* y *P. falciparum*. La malaria es la enfermedad parasitaria más importante del mundo, ocasionando casi 500.000 muertes por año. La mayoría de los casos se registran en el África subsahariana, pero también se ven afectadas Asia Sudoriental, el Mediterráneo Oriental, el Pacífico Occidental y las Américas. La enfermedad es endémica en 91 países y además de su relevancia médica y epidemiológica, la malaria tiene importancia desde el punto de vista socioeconómico, por su impacto en los países en vías de desarrollo (OMS 2018).

En las Américas, entre 2000 y 2013 se logró una reducción sustancial en la incidencia de casos de malaria en todos los países endémicos, con la excepción de Guyana y Venezuela, en los cuales se describió un aumento significativo de la morbilidad por malaria durante el mismo período (WHO 2014). En las naciones altamente endémicas de malaria, como Brasil, Colombia y, de hecho, las Américas en general, han logrado una disminución del 50% o más en los casos debido a la implementación de los programas denominados Desarrollo del Milenio y el Plan de Acción Mundial contra la Malaria 2008-2015 (Rodríguez-Morales y Paniz-Mondolfi 2014, Recht et al. 2017).

En Venezuela, la malaria por *P. vivax* representó el 82% de todos los casos, durante los últimos años, seguida de *P. falciparum* (16%), *P. malariae* (<1%) e infección mixta (1,4%). Los estados Bolívar, Amazonas y Sucre se encuentran entre las regiones de Venezuela con mayor incidencia de malaria (63,3, 16,9 y 12,5%, respectivamente) (Cáceres 2011). La malaria representa uno de los aumentos más obvios en las enfermedades desatendidas de Venezuela, donde se ha observado un incremento, de casi tres veces, de los casos de malaria en el territorio venezolano desde el año 2014. La malaria por *P. falciparum* ha aumentado hasta casi un 30%, en el estado Bolívar (Rodríguez-Morales y Paniz-Mondolfi 2014, Recht et al. 2017, Daniels 2018, PAHO 2018, Pacheco et al. 2019).

La gravedad y sintomatología de la enfermedad depende de la especie infectante, siendo la que produce la patología más grave *P. falciparum*. Los síntomas son, principalmente, escalofríos y fiebre. La periodicidad de los episodios se corresponde con el ciclo eritrocítico. El aumento de la cantidad de eritrocitos infectados y destruidos produce restos celulares tóxicos, adhesión de los eritrocitos al endotelio vascular y a otros eritrocitos y formación de coágulos por eritrocitos, plaquetas, leucocitos y pigmento palúdico, pudiendo llevar al fallecimiento (WHO 2014, Milner 2018, OMS 2018).

El diagnóstico de malaria se realiza principalmente por la identificación por microscopía (extendido y gota gruesa) de las especies de *Plasmodium* spp. presentes en muestras de sangre coloreadas con Giemsa, ha sido convencionalmente el método de referencia. Sin embargo, esta técnica requiere de personal entrenado y tiene baja sensibilidad particularmente cuando las parasitemias son bajas o en infecciones mixtas (Rosenblatt 2009, Barber et al. 2013, Murphy et al. 2013).

La detección de anticuerpos no es muy útil en zonas endémicas y puede presentar baja sensibilidad y especificidad. La determinación de antígenos del parásito circulante puede ser un marcador más apropiado de una infección activa. Diversas pruebas inmunocromatográficas comerciales de diagnóstico rápido (RDT: *Rapid Diagnostic Test*) para la detección de antígenos parasitarios están disponibles, cuya sensibilidad y la especifi-

cidad son adecuadas. Las limitaciones de los RDTs son que generalmente no pueden identificar infecciones de *P. falciparum* de las infecciones mixtas, la baja sensibilidad especialmente en infecciones por *P. vivax*, *P. malariae* o *P. ovale*, las reacciones cruzadas con otros antígenos y la permanencia de la reactividad después del tratamiento (Rubio *et al.* 2001, Moody 2002, Maltha *et al.* 2010).

El uso de técnicas basadas en la amplificación de ADN como la PCR y sus variantes son útiles en el diagnóstico por su alta sensibilidad y especificidad (Rubio *et al.* 2001, Murphy *et al.* 2013). Para la técnica se requieren controles positivos, tradicionalmente obtenidos a partir de muestras de sangre de pacientes, que son muy variables (Rubio *et al.* 2001). La tecnología del ADN recombinante permite la clonación de diversas secuencias que posteriormente se pueden utilizar como controles positivos (Navarrete-Castro *et al.* 2004, Acevedo *et al.* 2009, Camacho *et al.* 2016). Por lo que el objetivo de este trabajo fue la clonación de secuencias de *Plasmodium* para su utilización

sirviendo de controles en el diagnóstico molecular.

## >>> MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestra biológica

Se emplearon muestras de sangre de pacientes infectados por *P. vivax* y *P. falciparum* identificados por microscopía (extendido y gota gruesa) de sangre coloreada con Giemsa, realizadas por microscopistas especializados del Centro de Investigaciones de Campo “Dr. Francesco Vitanza”, Tumeremo, municipio Sifontes, estado Bolívar, Venezuela. Se confirmó la especie presente en estas muestras por PCR realizada en el Instituto de Investigaciones Biomédicas “Dr. Francisco J. Triana Alonso” (BIOMED), de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Sede Aragua, en Maracay, Venezuela.

### Plásmido de clonación y genotipo bacteriano

Se utilizó el vector pGEM®-T Easy (Prome-

## 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



ga), que permite la clonación directa de productos de PCR. Se emplearon bacterias *Escherichia coli* de la cepa XL1-Blue MRF<sup>+</sup> (Stratagene®) y del genotipo: *supE44*, *hsdR17*, *recA1*, *endA1*, *gyrA46*, *thiE1A1*, *lacI* (*proAB+* *lacI lacZ ΔM15*, *Tn10*, *Tet<sup>r</sup>*), para la propagación y mantenimiento de los plásmidos.

### Extracción de ADN

El aislamiento de ADN de las muestras se llevó a cabo por extracción con solventes orgánicos utilizando la técnica de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (Sambrook y Russel 2001), adaptada a las condiciones del laboratorio (Rivero *et al.* 2004). El papel de filtro con la sangre seca fue colocado en un microtubo, se maceró con 400 μL de tampón (Tris 0,05 M, pH 8; EDTA 0,05 M; NaCl 0,1 M y 1% de SDS) y proteinasa K 0,2 mg/mL. Luego, se colocó cada muestra en baño María a 55°C por 1 hora. Posteriormente, se le adicionó 300 μL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1), se agitó y se centrifugó a 6.200 g por 5 min. Se trasvasó el sobrenadante a otro vial y se agregó 300 μL de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (25:24:1), se mezcló por inversión y se centrifugó a 6.200 g por 5 min. Se tomó la fase acuosa y se colocó en otro microtubo, al cual se le agregaron 300 μL de cloroformo, se centrifugó de nuevo y el sobrenadante se trasvasó a otro microtubo para posteriormente precipitar el ADN con dos volúmenes de isopropanol más 50 μL de NaCl 5 M y se colocó a -20°C durante toda la noche. A continuación, se centrifugó a 18.800 g durante 15 min y se lavó el precipitado con 700 μL de isopropanol al 70%, se centrifugó otra vez a 18.800 g por 15 min y se secó el precipitado (Speed Vac Thermo Savant DNA 120). Finalmente, se resuspendió el ADN en 50 μL de agua destilada estéril, se le agregó 0,1 μg/μL de ARNasa (Promega) y se incubó a 65°C durante 10 min. El ADN se guardó a -20°C hasta su utilización.

### PCR anidada

La detección de *P. falciparum* y *P. vivax* se llevó a cabo usando cebadores específicos para la región del ADN codificante del ARN ribosomal de la subunidad pequeña del género *Plasmodium*; cebador directo rPLU5:  
- 5'-CCTGTTGTTGCCTTAAACTTC-3' y cebador reverso rPLU6:

- 5'-TTAAAATTGTTGCAGTTAAAACG-3' y para cada especie: *P. falciparum* cebador directo rFAL1:  
- 5'-TTAAACTGGTTTGGGAAAACCAAATATAT-3' y cebador reverso rFAL2:  
- 5'-ACACAATGAACTCAATCATGACTACCCGT-3' y *P. vivax*: cebador directo rVIV1:  
- 5'-CGCTTCTAGCTTAATCCACATAACTGATA-3' y cebador reverso rVIV2: ACTTCCAA-GCCGAAGCAAAGAAAGTCCT

TA. El tamaño de los productos esperados es de 1.200 pb para la secuencia de *Plasmodium* sp. de la primera reacción y en la segunda reacción de 120 pb para *P. vivax* y de 205 para *P. falciparum* (Snounou *et al.* 1993). Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen de 25 μL con ~10 ng de ADN, en un termociclador PTC-100 (MJ Research, Inc., Watertown, MA). Se emplearon controles negativos en cada reacción (todos los reactivos excepto el ADN molde).

La PCR para determinar el género *Plasmodium*, se llevó a cabo empleando los oligonucleótidos cebadores rPLU5 y rPLU6, los cuales amplifican una región común del genoma en las dos especies estudiadas de *Plasmodium*. Esta reacción se realizó siguiendo el protocolo anteriormente estandarizado (Snounou *et al.* 1993), con algunas modificaciones: tampón de reacción Colorless GoTaq® Flexi (TrisHCl 50 mM pH 8,5; NaCl 50 mM), MgCl<sub>2</sub> 0,6 mM, mezcla de desoxirribonucleótido trifosfato (dNTPs) 120 μM, 0,24 μM de cada cebador rPLU6 y rPLU5 y GoTaq® Flexi DNA polimerasa (Promega) 1 U. Se adicionó 10 ng de ADN obtenido de las muestras de los pacientes, en un volumen final de 25 μL. La reacción se realizó en un termociclador PTC-100 thermalcycler (MJ Research, Inc., Watertown, MA) con el programa; 94°C por 4 minutos, 30 ciclos de 94°C durante 30 segundos, 58°C por 1 minuto, 72°C durante 1 minuto y una extensión final a 72°C por 5 minutos.

Para la detección de las especies de *P. vivax* y *P. falciparum*, se realizó una PCR multiplex, es decir, agregando en el mismo tubo los cebadores específicos de cada especie del parásito, de la siguiente forma: tampón de reacción GoTaq® Flexi (TrisHCl 50mM pH 8,5; NaCl 50mM), MgCl<sub>2</sub> 1 mM, mezcla de dNTPs 120 μM, 0,24 μM de cebadores para *P. falciparum* (rFAL1 y rFAL2), 0,16 μM de cebadores para *P. vivax* (rVIV1 y rVIV2) y

GoTaq® Flexi DNA polimerasa (Promega) 1 U. Se adicionó 2 µL del producto de la primera reacción de PCR diluido 1/10, para un volumen total de 25 µL. La segunda PCR se realizó en un termociclador PTC-100 thermalcycler® (MJ Research, Inc., Watertown, MA) con el siguiente programa: 94°C por 4 minutos, 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 58°C durante 1 minuto, 72°C por 1 minuto y una extensión adicional a 72°C por 5 minutos. En todas las PCR realizadas se hizo un control negativo formado por la mezcla de reacción.

### Electroforesis en gel de agarosa

Tanto los ADN extraídos de cada muestra como los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2% empleando como tampón de electroforesis TBE (Tris Base 0,9 M; Ácido Bórico 0,9 M; EDTA 0,01 M, pH: 8,5) a un voltaje de 80 V por 45 min. Las muestras de ADN se colocaron en cada pocillo con tampón muestra (xilen-cianol al 0,02%, azul de bromofenol al 0,02 %, glicerol al 50%)

y SYBR® Green I<sup>(19)</sup> y se observaron en un equipo de fotodocumentación (BIORAD Molecular Imager® Gel DOC™XR+) utilizando el Software de análisis de imagen (Image Lab™ Software Versión 3.0) suministrado por el mismo fabricante.

### Purificación de los productos de PCR

Las bandas de ADN de las segundas reacciones se cortaron a partir de los geles de agarosa y se purificaron utilizando el estuche comercial Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System® (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

### Construcción de los plásmidos recombinantes

Se utilizó 1 U de la enzima ADN ligasa T4 para la reacción de ligación de los productos de PCR purificados y el vector comercial pGEM®-T Easy. Se empleó una relación molar plásmido-inserto 1:5 y 1:10. El tampón utilizado fue: Tris- HCl

## ONE STEP Anti-HIV (1&2) Test

es un ensayo inmunocromatográfico rápido realizado con oro coloidal para la detección cualitativa de anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) de todos los isotipos (IgG, IgM, IgA) específico para el VIH-1, incluidos el subtipo O y el VIH-2 simultáneamente.

- Sensibilidad Diagnóstica 99,8 %
- Especificidad 100%
- Resultados en 15 minutos
- Suero, Plasma o Sangre entera
- Kit x 40 determinaciones
- Amplia fecha de vencimiento



**CROMOION**  
ABASTECIMIENTO INTEGRAL HOSPITALARIO  
División Diagnóstico - Biología Molecular

Central: Oporto 6125 - Ciudad de Buenos Aires - Argentina  
Planta Elaboradora Punta Alta, Prov. de Buenos Aires  
mail: [reporte@cromoion.com](mailto:reporte@cromoion.com)  
[www.cromoion.com](http://www.cromoion.com)  
Tel: +54 11 4644-3205/06

30 mM (pH 7,8), MgCl<sub>2</sub> 10 mM, DTT 10 mM, ATP 1 mM. Posteriormente, se incubó a 4°C por al menos 12 h.

### Preparación y transformación de células competentes

Se realizó un cultivo de bacterias, *E. coli* XL1-BLUE MRF', en 5 mL de medio LB (Luria Bertani; triptona 10g/L, extracto de levadura 5 g/L, NaCl 5 g/L, pH 7), a partir *E. coli* XL1B criopreservadas y se cultivó a 37°C y 200 rpm, toda la noche. Posteriormente, se diluyó 1 mL del cultivo en 50 mL de medio LB y se incubó a 37°C con agitación de 200 rpm. Después se centrifugaron las células por 15 minutos a 3.000 rpm a 4°C, y se resuspendió el sedimento en 10 mL de CaCl<sub>2</sub> 100 mM también a 4°C. Se centrifugaron por 15 minutos a 3.000 rpm a 4°C y se resuspendieron en 4 mL de solución CaCl<sub>2</sub> 100 mM más glicerol 15%, a 4°C y finalmente se colocaron 200 µL de células competentes en microtubos y se congelaron rápidamente a -80°C, hasta su uso (Sambrook y Russel 2001). Una vez preparadas las células competentes, a 200 µL de las mismas, se les añadió las mezclas de ligación para su transformación por choque térmico (30 min 4°C, 90 seg 42°C, 2 min 4°C). Se agregó 800 µL de medio LB (a 42°C) a cada tubo y se incubó a 37°C, con agitación de 200 rpm por 1 hora. Se extendieron 200 µL de las células transformadas en placas de LB-Agar-Ampicilina (100 µg/mL) tratadas con X-Gal (20 mg/mL) e IPTG (1 M). Se incubó a 37°C por al menos 12 horas. Posteriormente, se cuantificaron las colonias blancas (recombinantes) y las azules (no recombinantes).

### Análisis de las colonias bacterianas recombinantes (PCR de colonias)

Una pequeña traza de cada colonia blanca seleccionada fue colocada en 25 µL de mezcla de reacción de PCR (cebadores 0,2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, dNTP's 0,2 mM, *Taq* polimerasa GoTaq® Flexi, Promega 1 U y tampón de reacción GoTaq® Flexi Buffer colorless). Los cebadores empleados fueron los descritos anteriormente para la segunda reacción de PCR. El programa utilizado fue: 94°C por 5 min, 30 ciclos (94°C x 30 seg, 50°C x 30 seg, 72°C x 2 min) y 72°C durante 7 min. Como control negativo se utilizó una colonia azul. Los productos de la PCR se observaron en geles de agarosa al 2%,

empleando un marcador de tamaño molecular de pares de bases (100 bp DNA step ladder, Axygen).

### Obtención de los plásmidos recombinantes

Una vez confirmada por PCR, la recombinación de los fragmentos de ADN en el vector comercial pGEM®-T Easy en las células transformadas, se hicieron cultivos de estas en medio LB líquido con ampicilina (100 µg/mL) para obtener a partir de estas colonias los ADN plasmídicos. Se centrifugaron los cultivos y el sedimento se resuspendió en tampón TE (Tris- HCl 50 mM, pH: 8, EDTA 10 mM), y RNAsa (100 µg/mL) y se incubó a 37°C durante 15 min. Se agregó NaOH 200 mM y SDS al 1% y se colocaron por 5 minutos a temperatura ambiente, se añadió acetato de potasio (3 M, pH 5,5) y se incubó a 4°C durante 5 minutos. Luego, se centrifugaron las suspensiones y se precipitó el ADN plasmídico utilizando isopropanol y acetato de potasio (3 M, pH 5,5). Posteriormente, se centrifugaron los microviales a 14.000 rpm por 30 minutos, se le colocó etanol al 70% al sedimento para lavarlo y se centrifugó de nuevo. Se dejaron secar los ADN plasmídicos y se resuspendieron en agua destilada estéril y se conservaron a -20°C hasta su uso.

Se realizó la PCR multiplex para la detección de *P. vivax* y *P. falciparum* en la forma antes descrita y utilizando como ADN molde 1 µL de los ADN plasmídicos obtenidos. Los productos se observaron en geles de agarosa de la forma antes descrita.

## >>> RESULTADOS

La cantidad y calidad de los ADN extraídos de muestras de sangre en papel de filtro de pacientes infectados con *P. vivax* y *P. falciparum* fue buena ya que se amplificaron por PCR las secuencias codificantes del ARN ribosomal de la subunidad pequeña de estos parásitos. Se observaron las bandas diagnósticas de 120 pb y 205 pb, de *P. vivax* y *P. falciparum* respectivamente.

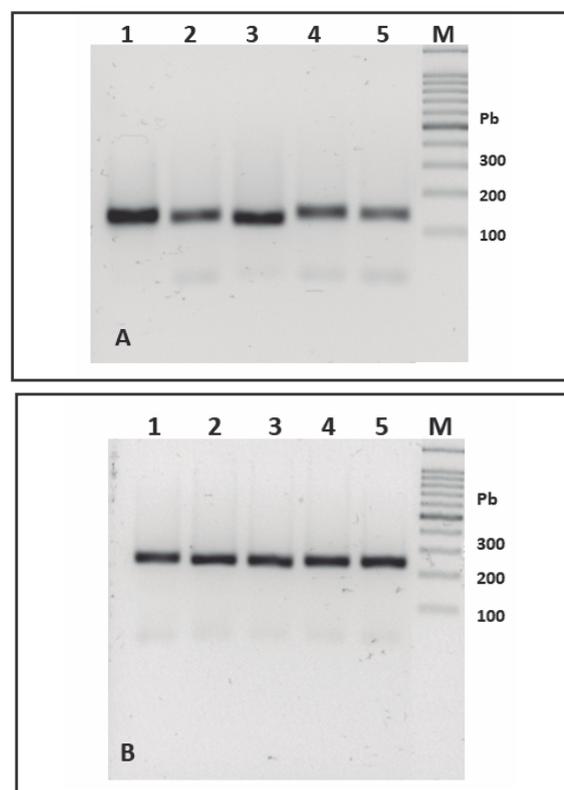
Se purificaron estas bandas a partir de gel de agarosa y se realizaron las ligaciones con el vector de clonación pGEM-T-Easy. Tanto la reacción de ligación, como la transformación de las células competentes *E. coli* XL1Blue MRF' con las

mezclas de ligación fueron exitosas, ya que se identificaron 5 colonias recombinantes (blancas) de *P. vivax* y 12 de *P. falciparum*. Se verificó la presencia del inserto en estas colonias mediante PCR de colonias, observándose las bandas diagnósticas características de 120 pb para *P. vivax* (Fig. 1A) y de 205 pb para *P. falciparum* (Fig. 1B) en la mayoría de las colonias.

Se extrajo el ADN plasmídico de 3 colonias recombinantes para cada especie. Se utilizaron estos ADN plasmídicos extraídos en la PCR de diagnóstico de malaria. De nuevo se obtuvieron las bandas diagnósticas características que presentaban el fragmento del tamaño esperado (Fig. 2).

>> **Figura 1.** Electroforesis en agarosa al 2% de los productos de reacción de la PCR de colonias para la verificación de la clonación. A) (1-5) Colonias recombinantes de *Plasmodium vivax* (M) Marcador de 100 pb (Promega). B) (1-5) Colonias recombinantes de *Plasmodium falciparum*, (M) Marcador

de 100 pb (Promega).



 **BD Vacutainer®**  
Líder en Soluciones Preanalíticas

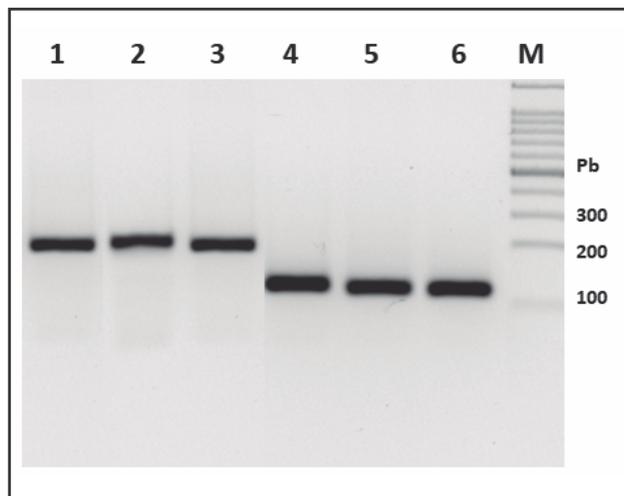
Calidad y Bioseguridad:  
Su interés y nuestro compromiso



Para contactarse, llámenos al: 0800-444-55BD (23)  
o escribanos a: [vacutainer@bd.com](mailto:vacutainer@bd.com)



>> **Figura 2.** Electroforesis en agarosa al 2% de los productos de reacción de la PCR de diagnóstico de malaria utilizando los ADN plasmídicos con las secuencias clonadas. (1-3) ADN plasmídicos con la secuencia clonada de *Plasmodium falciparum*. (4-6) ADN plasmídicos con la secuencia clonada de *Plasmodium vivax*. (M) Marcador de 100 pb (Promega).



## >>> DISCUSIÓN

Las técnicas moleculares son un avance importante para los laboratorios en los cuales se realiza diagnóstico y/o investigación de enfermedades parasitarias. El uso de técnicas basadas en la amplificación de ADN como la PCR y sus variantes, son útiles en el diagnóstico por su alta sensibilidad y especificidad en la detección de agentes infecciosos por amplificación de ciertas secuencias genómicas. Los resultados no dependen de una infección anterior ni del estado inmunológico del paciente, por lo que permiten identificar infecciones recientes (activas) (Murphy *et al.* 2013).

Desde los últimos años se tiene con un gran número de técnicas moleculares basadas en la amplificación de ADN (PCR) para el diagnóstico de malaria (Snounou *et al.* 1993, Rivero *et al.* 2004, Murphy *et al.* 2013, Berzosa *et al.* 2018, Martín-Díaz *et al.* 2018, Mirahmadi *et al.* 2018). La diana más empleada para la identificación de *Plasmodium* spp. es el ADN codificante del ARN ribosomal de la subunidad pequeña 18S (*small subunit ribosomal RNA, ssu-rRNA*), por tener secuencias variables y conservadas a lo largo del gen (Snounou *et al.* 1993, Murphy *et al.* 2013). La técnica de PCR basada en la amplificación de esta diana, se utiliza comúnmente

por los laboratorios de investigación y de referencia de diagnóstico de malaria de los distintos países endémicos e incluidos países no endémicos (Snounou *et al.* 1993), para diagnóstico, en el caso de migrantes y viajeros (Martín-Díaz *et al.* 2018).

Con respecto a la malaria, se ha demostrado en diferentes trabajos que la sensibilidad de la técnica de PCR es mayor que la de los métodos tradicionales basados en examen microscópico (extendido de sangre coloreado y gota gruesa) o las técnicas basadas en detección de antígenos (Berzosa *et al.* 2018, Martín-Díaz *et al.* 2018, Mirahmadi *et al.* 2018). Por otro lado, se obtiene una mejor especificidad, lo cual permite una mejor identificación de la especie y la determinación de mayor número de infecciones mixtas que empleando las otras técnicas (Rubio *et al.* 2002, Berzosa *et al.* 2018, Martín-Díaz *et al.* 2018, Mirahmadi *et al.* 2018).

Tanto para la estandarización, validación y uso de estas técnicas moleculares se requiere contar con controles positivos, los cuales frecuentemente se obtienen de muestras de pacientes o de cultivos. En el caso de las muestras de pacientes, la desventaja es la gran variabilidad existente por las diversas infecciones con diferentes cepas de los parásitos, los cuales pueden dar patrones no característicos en algunos casos. Con respecto a los cultivos, aunque, sería una muestra más homogénea, tiene como desventajas mayor laboriosidad, costos y riesgos de infección. Los controles son un elemento esencial en la interpretación de los resultados, sin ellos no se puede desarrollar un ensayo (Navarrete-Castro *et al.* 2004, Acevedo *et al.* 2009, Camacho *et al.* 2016, Báez 2017).

Para diagnosticar malaria es indispensable la confirmación en los laboratorios, dado que la sintomatología puede ser no característica. Para todos los diagnósticos, se necesitan controles positivos para validar los ensayos. Convencionalmente, se emplean muestras de pacientes infectados, que generalmente son difíciles de conseguir y presentan variabilidad, o muestras de cultivo que requiere de técnicas laboriosas y costosas. Una forma eficaz de obtener controles positivos, es la utilización de la tecnología de ADN recombinante que permite la clonación de secuencias específicas del genoma del parásito. En este

trabajo se presenta la clonación de las secuencias codificantes del ARN ribosomal de la subunidad pequeña de *P. vivax* y *P. falciparum*, con la finalidad de proponer el empleo de estos recombinantes como controles positivos para las técnicas moleculares, lo que disminuiría el uso de cultivos o muestras de pacientes infectados.

La tecnología de ADN recombinante permite solventar las desventajas del uso de muestras de pacientes o cultivos del parásito, con la clonación de las secuencias diana amplificadas por PCR (Navarrete-Castro *et al.* 2004, Acevedo *et al.* 2009, Camacho *et al.* 2016, Báez 2017).

En este estudio las secuencias fueron insertadas en el vector pGEM®-T Easy, que es un vector que permite la clonación directa de productos de PCR, representando una estrategia de clonación sencilla, que puede ser verificada mediante PCR de colonias y PCR de ADN plasmídico extraído de esas colonias recombinantes, tal

como se hizo en este trabajo y como ha sido realizado en otros trabajos (Navarrete-Castro *et al.* 2004, Acevedo *et al.* 2009, Camacho *et al.* 2016, Báez 2017).

Esta estrategia de clonación utilizando la tecnología del ADN recombinante y vectores apropiados para clonación directa de productos de PCR se ha utilizado para otros agentes infecciosos, tales como; virus, bacterias y hongos. En el caso de virus, se ha usado para el virus de influenza aviar (Acevedo *et al.* 2009), virus de la hepatitis C (Navarrete-Castro *et al.* 2004), alfavirus y flavivirus (Camacho *et al.* 2016) y el virus PRRS (síndrome reproductivo y respiratorio porcino) (Báez 2017).

En bacterias, se ha empleado para *Bacillus anthracis* (Sohni *et al.* 2008), *Salmonella entérica* (Gokduman *et al.* 2016) y en hongos en *Fusarium oxysporum* (Báez 2017). También se ha utilizado para control de calidad en detección de múltiples agentes (Chan *et al.* 2016).

# Publicá con nosotros

Entramos en un nuevo año, un año donde nos metemos de lleno en la ERA DIGITAL. El mundo cambio y la forma de llegar a más personas es a través de la tecnología. Es por eso que la forma de alcanzar nuevos clientes es con Revista Bioanálisis. Una revista con 17 años de trayectoria en el mercado del Diagnóstico Bioquímico. Donde te ofrecemos contenido actualizado, promoción de productos, interacción con el cliente, y mucho más.

Seguimos continuamente trabajando para ofrecerle el mejor servicio, y que juntos tengamos un año mejor.

Revista  
**bioanálisis**

[www.revistabioanalisis.com](http://www.revistabioanalisis.com)

Por otra parte, también se ha utilizado para el estudio de modificaciones genéticas (mutaciones) en el caso de enfermedades hematológicas como leucemia (Ustek *et al.* 2008) y se ha sugerido su uso para diferentes agentes patógenos de enfermedades endémicas y exóticas (Smith *et al.* 2006). En estas últimas, es muy difícil conseguir los controles positivos de pacientes, debido al bajo número de casos.

La tecnología del ADN recombinante puede proporcionar un posible banco de controles positivos permanente para cualquier agente infeccioso, evitando depender tecnológicamente de otros países para obtener los controles y disminuyendo la ejecución de protocolos laboriosos y costosos para tener aislados tanto virales, como de bacterias, hongos, o parásitos, utilizando cultivos celulares y/o inoculación de animales de laboratorio (Navarrete-Castro *et al.* 2004, Smith *et al.* 2006, Sohni *et al.* 2008, Ustek *et al.* 2008, Acevedo *et al.* 2009, Camacho *et al.* 2016, Chan *et al.* 2016, Gokduman *et al.* 2016, Báez 2017).

Otra de las ventajas de la clonación de las secuencias diana diagnósticas de las técnicas moleculares es que se garantiza la reproducibilidad de los resultados. Además, de poder hacer estudios de posible variabilidad de ese gen mediante secuenciación.

Entre las colonias recombinantes obtenidas, dos de ellas; una correspondiente a *P. vivax* y otra correspondiente a *P. falciparum*, rindieron productos de amplificación de tamaños diferentes a las bandas diagnósticas características. Pudiese tratarse de variantes genéticas del parásito en las muestras de esos pacientes, pero hacen falta más estudios, principalmente de secuenciación de esos productos, para determinar si realmente corresponden a variaciones genéticas del parásito o a algún artefacto producido en la metodología de obtención de los clones recombinantes. De todos modos, esta metodología permite seleccionar los clones con el inserto del tamaño correcto y guardar los clones diferentes para estudios posteriores.

Estos plásmidos recombinantes con las secuencias clonadas, pueden ser multiplicados de manera de mantener un suministro constante de

controles positivos para diagnóstico e investigación en malaria, además de poder ser cedidos a otros grupos de investigación de regiones no endémicas que no disponen de los controles necesarios. Además, con ellos puede hacerse control de calidad externo y comparaciones de técnicas en estudios multicéntricos sin la limitante de que se puedan agotar los controles positivos.

## >>> CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la clonación de los productos de PCR y su aplicación como controles en diagnóstico e investigación en malaria, favoreciendo la reproducibilidad de la técnica y evitando el uso de muestras de pacientes, que generalmente presentan gran variabilidad.

## Agradecimientos

A todo el personal del Centro de investigaciones de Campo “Dr. Francisco Vitanza” por recibirnos y orientarnos para la toma de muestras a pacientes, en especial a su director, el Dr. Jorge Moreno.

## >>> REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVEDO AM, SANTANA E, DÍAZ DE ARCE H, PÉREZ LJ, CABALLEROA, SUÁREZ L, SÁNCHEZ O. 2009. Desarrollo de controles positivos para métodos moleculares de detección de virus de influenza aviar. *Rev. Salud Anim.* 31(1):50-54.

BÁEZ J. 2017. Clonación de genes para elaboración de controles positivos internos para la detección de enfermedades que afectan al sector agropecuario. Quito: Universidad de las Américas [Disertación Grado Ingeniero Agrónomo], pp. 64-92.

BARBER BE, WILLIAMT, GRIGG MJ, YEO TW, ANSTEY NM. 2013. Limitations of microscopy to differentiate *Plasmodium* species in a region co-endemic for *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and *Plasmodium knowlesi*. *Malar. J.* 12(1):8.

BERZOSA P, DE LUCIO A, ROMAY-BARJA M, HERRADOR Z, GONZÁLEZ V, GARCÍA L, FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ A, SANTANA-MORALES M, NCOGOP, VALLADARES B, RILOHA M, BENITO A. 2018. Comparison of three diagnostic methods (microscopy, RDT, and PCR) for the detection of malaria parasites in representative samples from Equatorial Guinea. *Malar. J.* 17(1):333.

CÁCERES JL. 2011. La malaria en el estado Bolívar, Venezuela: 10 años sin control. *Bol. Mal. Salud Amb.* 51(2):207-214.

CAMACHO D, REYES J, FRANCO L, COMACH G, FERRER E. 2016. Clonación de secuencias de alfavirus y flavivirus

- para su uso como controles positivos en el diagnóstico molecular. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública.* 33(2):269-273.
- CHAN M, JIANG B, TANTY. 2016. Using pooled recombinant plasmids as control materials for diagnostic Real-Time PCR. *Clin. Lab.* 62(10):1893-1901.
- DANIELS JP. 2018. Increasing malaria in Venezuela threatens regional progress. *Lancet Infect Dis.* 18(3):257.
- GOKDUMANK, AVSAROGLU MD, CAKIRISA, USTEK D, GURAKAN GC. 2016. Recombinant plasmid-based quantitative Real-Time PCR analysis of *Salmonella enterica* serotypes and its application to milk samples. *J. Microbiol. Methods.* 122:50-58.
- MALTHA J, GILLET P, CNOPS L, VAN DEN EJ, VAN ESBROECK M, JACOBS J. 2010. Malaria rapid diagnostic tests: *Plasmodium falciparum* infections with high parasite densities may generate false positive *Plasmodium vivax* pLDH lines. *Malar. J.* 9(1):198.
- MARTÍN-DÍAZ A, RUBIO JM, HERRERO- MARTÍNEZ JM, LIZASOAIN M, RUIZ-GIARDIN JM, JAQUETI J, CUADROS J, ROJO-MARCOS G, MARTÍN-RABADÁN P, CALDERÓN M, CAMPELOC, VELASCOM, PÉREZ-AYALAA. 2018. Study of the diagnostic accuracy of micro-biological techniques in the diagnosis of malaria in the immigrant population in Madrid. *Malar. J.* 17(1):314.
- MILNER DA JR. 2018. Malaria pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 8(1). pii:a025569.
- MIRAHMADI H, SHAHRAKIPOUR A, MEHRAVARAN A, KHORASHAD AS, RAHMATI-BALAGHALEH M, ZAREAN M. 2018. Evaluation of malaria multiplex/nested PCR performance at low parasite densities and mixed infection in Iran: A country close to malaria elimination. *Infect. Genet. Evol.* 65:283-287.
- MOODY A. 2002. Rapid diagnostic tests for malaria parasites. *Clin. Microbiol Rev.* 15(1):66-78.
- MURPHY SC, SHOTT JP, PARIKH S, ETTER P, PRESCOTT WR, STEWART VA. 2013. Malaria diagnostics in clinical trials. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 89(5):824-839.
- NAVARRETE-CASTRO J, MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ M, SIRIA-TORREBLANCA N, CALDERÓN-RODRÍGUEZ GM. 2004. Clonación de una secuencia representativa de la región no traducible 5' (5'-UTR) del virus de la hepatitis C. *Bioquímica.* 29(1):11-17.
- OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD). 2018. Notas descriptivas Paludismo. Disponible en línea en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria> (Acceso 03.02.2019).
- PACHECO C, MORENO J, HERRERA F. 2019. Molecular detection and species determination of malaria parasites, Venezuela. *Emerg. Infect. Dis.* 25(2):355-357.
- PAHO (PAN-AMERICAN HEALTH ORGANIZATION). 2018. Interactive Malaria Statistics. Disponible en línea en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=readall&cid=2149&Itemid=40757&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=readall&cid=2149&Itemid=40757&lang=es) (Acceso 03.02.2019).
- RECHT J, SIQUEIRA AM, MONTEIRO WM, HERRERA SM, HERRERAS, LACERDA MVG. 2017. Malaria in Brazil, Colombia, Peru and Venezuela: current challenges in malaria control and elimination. *Malar. J.* 16(1):273.
- RIVERO J, URDANETA L, ZOGHBI N, PERNALETE M, RUBIO-PALISY, HERRERA F. 2004. Optimization of extraction procedure for mosquitos DNA suitable for PCR-based techniques. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 24(3):266-269.
- RODRÍGUEZ-MORALES AJ, PANIZ-MONDOLFI AE. 2014. Venezuela's failure in malaria control. *Lancet.* 384(9944):663-664.
- ROSENBLATT JE. 2009. Laboratory diagnosis of infections due to blood and tissue parasites. *Clin. Infect. Dis.* 49(7):1103-1108.
- RUBIO JM, BUHIGAS I, SUBIRATS M, BAQUERO M, PUENTE S, BENITO A. 2001. Limited level of accuracy provided by available rapid diagnosis tests for malaria enhances the need for PCR-based reference laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 39(7):2736-2737.
- RUBIO JM, POST RJ, VAN LEEUWEN WM, HENRY MC, LINDERGARD G, HOMMEL M. 2002. Alternative polymerase chain reaction method to *iPlasmodium* species in human blood samples: the semi-nested multiplex malaria PCR (SnM-PCR). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 96(S1):S199-S204.
- SAMBROOK J, RUSSELL D. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual, 3a ed. Cold Spring Harbor, New York, USA, pp. 157-251.
- SMITH G, SMITH I, HARROWER B, WARRILOW D, BLETCHLY C. 2006. A simple method for preparing synthetic controls for conventional and real-time PCR for the identification of endemic and exotic disease agents. *J. Virol. Methods.* 135(2):229-234.
- SNOUNOU G, VIRIYAKOSOL S, ZHU XP, JARRA W, PINHEIRO L, DO ROSARIO VE, THAITHONG S, BROWN KN. 1993. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol. Biochem. Parasitol.* 61(2):315-320.
- SOHNIY, KANJILALS, KAPURV. 2008. Cloning and development of synthetic internal amplification control for *Bacillus anthracis* real-time polymerase chain reaction assays. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 61(4):471-475.
- USTEK D, SIRMAS, CAKIRISA, COŞAN F, OKU B, ÖZBEK U. 2008. Cloning of chimerical translocations as positive control for molecular genetic diagnosis of leukemia. *Turk J. Haematol.* 25(1):20-23.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). 2014. World malaria report. Geneva. Disponible en línea en: [http://www.who.int/malaria/publications/world\\_malaria\\_report\\_2014/en/](http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/en/) (Acceso 03.02.2019).

# 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

**XVIII Jornadas del Comité Científico**

Fecha: 2 al 5 de marzo  
 Organiza: EFLM Y IFCC  
 Web: infobioquimica.com

**Curso online: Actualización en Medicina Transfusional. Presente y Futuro**

Fecha: abril  
 Organiza: IFCC  
 Web: infobioquimica.com

**EL LABORATORIO CLÍNICO EN LA MEDICINA DE PRECISIÓN. BASES FARMACOGENÓMICAS DE LA TERAPÉUTICA (74-2). Curso virtual**

Fecha: mayo a septiembre de 2021.  
 Organiza: Facultad de Farmacia y Bioquímica Universidad de Buenos Aires  
 Web: <http://www.ffyb.uba.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](mailto:info@expomedical.com.ar)  
 Tel: 4791-8001  
 Web: [expomedical.com.ar](http://expomedical.com.ar)

**XXIV JORNADAS BIOQUÍMICAS del NOA**

Fecha: 2021  
 Lugar: La Rioja  
 Modalidad: **REPROGRAMADO 2021**  
 Web: [www.jornadasbioquimicasnoa.org](http://www.jornadasbioquimicasnoa.org)

E-mail:  
[jornadasbioqNOA2020@gmail.com](mailto:jornadasbioqNOA2020@gmail.com)

**CALILAB 2020**

Fecha: 2021  
 Lugar: Mar del Plata - Bs As  
 Modalidad: **REPROGRAMADA 2021**  
 Web: [www.calilab.fba.org.ar](http://www.calilab.fba.org.ar)

**>>> INTERNACIONALES****ARALAB**

Fecha: Marzo 2021  
 Lugar: Dubai Emiratos Árabes  
 Email: [info@arablab.com](mailto:info@arablab.com)

**XXIV IFCC - EFLM Euromedlab Munich 2021**

Fecha: Mayo 2021  
 Lugar: Munich Alemania  
 Email: [info@rwgroup.com.ar](mailto:info@rwgroup.com.ar)  
 AACB 58TH ANNUAL SCIENTIFIC CONFERENCE

Fecha: Septiembre 2021  
 Lugar: Brisbane Australia  
 Email: [conference@aacb.asn.au](mailto:conference@aacb.asn.au)

**XXV CONGRESO COLABIOCLI**

Fecha: Marzo 2022  
 Lugar: León México  
 Mail: [info@rwgroup.com.ar](mailto:info@rwgroup.com.ar)

**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

## >>> Avan

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

## >>> 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

## >>> 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

## >>> Cromoion SRL

Central: Oporto 6125 - Ciudad de Buenos Aires  
- Argentina  
Planta Elaboradora Punta Alta, Prov. de  
Buenos Aires  
mail: reporte@cromoion.com  
website: www.cromoion.com  
Tel: +54 11 4644-3205/06  
WhatsApp +54 9 11 4141-4365  
Instagram @cromoion

## >>> Cisma Laboratorios S.A

San Lorenzo 158, Tres Arroyos, Buenos Aires  
Arg.  
Tel: (+54) 2893 15406395 (+54) 2893 420867  
Web: cismalab.com.ar  
Email: cismalab@cismalab.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

>>> 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.  
Cromoion SRL

#### 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

Biocientífica 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  
Cromoion SRL  
Biocientífica S.A

#### 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  
Cromoion SRL

#### 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  
Cromoion SRL

#### 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.  
Cromoion SRL

#### 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.  
Cromoion SRL  
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  
Cromoion SRL

#### Toxicología y Forense

Abbott Laboratories Argentina S.A.  
Abbott Rapid Diagnostics  
Biocientífica S.A.  
Montebio S.R.L.  
Tecnolab s.a.  
Cromoion SRL

#### 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.

Cromoion SRL

#### >>> 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)

#### **Stamboulia 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**

#### **Stamboulia 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**

#### **Stamboulia 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)

#### **Stamboulia 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)

#### **Stamboulia 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.**

**Biocientífica 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.**

**Cromoion SRL**

#### **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 Tecnologías 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**

**Cromoion SRL**

**Biocientífica S.A**

Revista

**bi**análisis

**DISFRUTA NUESTROS EJEMPLARES  
DESDE CUALQUIER DISPOSITIVO**

[www.revistabioanalisis.com](http://www.revistabioanalisis.com)



# BUSCA NUEVOS CLIENTES POSICIONÁ TU MARCA

PUBLICÁ CON NOSOTROS

## PARA MÁS INFO



261 681-6777



ventas@revistabioanalysis.com



www.revistabioanalysis.com

Revista

**bio**análisis

www.revistabioanalysis.com