

# Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

---



Volumen 12, N° 1  
Año 2009

Revista arbitrada dedicada a estudios  
humanos, animales y de laboratorio  
relacionados con la investigación  
biológica y clínica

Publicada semestralmente por la Sociedad  
Venezolana de Bioanalistas Especialistas  
Caracas, República Bolivariana de Venezuela.

**Dirección:** Av. Ppal de Los Chorros  
entre transversal Alfredo Jahn y Alvarez Michaud,  
Qtq. Colegio de Bioanalistas.  
Caracas, Venezuela

ISSN: 1315-1746

**Depósito Legal:** pp 199202DF899  
Suscrita a Lilacs, Asereme Bireme

## Consejo Directivo Editora

Dra. Ana Monzón de Orozco

## Gerencia Editorial

MSc María Rosángel Morales B.

## Gerencia Administrativa

Esp. Noel Silva

## Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas (S.V.B.E.)

## Junta Directiva Presidenta

Dra. Ana Monzón de Orozco

## Dirección General

## Dirección Científica

Esp Shasbleidy Diaz

## Dirección Administrativa

Esp. Noel Silva

## Dirección de Proyectos y Divulgación Científica

Esp Valmore Rodriguez

## Comisión para otorgar unidades crédito

Lic. Josefina Guariguata

Lic. Graciela Maggi

## Comité de Redacción

Dra. Priva Zabner de Oziel

Dr. Axel R. Santiago

Dr. Julio Cesar González

Esp. Fabiola Fabiano

Esp. Nathalie Briones

Esp. Noel Silva

Esp. Shasbleidy Diaz



# Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

## CONTENIDO

<b>Editorial</b> .....	109
<b>Triglicéridos posprandiales y su relación con las enfermedades cardiovasculares</b> M <sup>a</sup> Fátima Garcés, Hilda Stekman, Afdokia Bisarini, Ramón Briceño, Adriana Rivas, Sinay Palma, Mónica Zavala, Francisco Hernández.....	111
<b>Detección de ADN de <i>Chlamydomydia pneumoniae</i> en líquido cefalorraquídeo proveniente de pacientes diagnosticados con enfermedad de Alzheimer</b> Alejandra Pérez, Luis Torres, Francisco Hernández, Luis Gonzalez, Wilhelm Izaguirre, Pablo Ordaz, Ciro Gaona.....	122
<b>Valor pronóstico de los niveles séricos del CA 125 en pacientes con Linfoma no Hodgkin.</b> Priva Zabner de Oziel, Rosa Somoza, Valentina Wallis, Claudia Galicia, Jean Desenne, Ana Monzón de Orozco, Marina Gonzalez, Gretta Acquatella, Marisela Morales, Yasmin Ordoñez, María Alejandra Torres, Antonieta Natale, Aixa Müller. ....	126
<b>Desarrollo de una propuesta para la implementación de un sistema de gestión de la calidad en un laboratorio clínico en Caracas – Venezuela</b> Briones N, Llada I, Bustamante Y.....	137
<b>Prevalencia de Norovirus como agente etiológico de gastroenteritis en niños venezolanos</b> Fabiano F, Suárez J, Calvo A, Naranjo L.....	145



# Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

## CONTENTS

<b>Editorial</b> .....	109
<b>Postprandial triglyceride and their relation with the cardiovascular diseases</b> M <sup>a</sup> Fátima Garcés, Hilda Stekman, Afdokia Bisarini, Ramón Briceño, Adriana Rivas, Sinay Palma, Mónica Zavala, Francisco Hernández.....	111
<b>DNA detection of <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> in cerebrospinal fluid of patients diagnosed with Alzheimer disease</b> Alejandra Pérez, Luis Torres, Francisco Hernández, Luis Gonzalez, Wilhelm Izaguirre, Pablo Ordaz, Ciro Gaona.....	122
<b>Prognostic value of serum CA 125 levels in non-Hodgkin 's lymphoma patients.</b> Priva Zabner de Oziel, Rosa Somoza, Valentina Wallis, Claudia Galicia, Jean Desenne, Ana Monzón de Orozco, Marina Gonzalez, Gretta Acquatella, Marisela Morales, Yasmin Ordoñez, María Alejandra Torres, Antonieta Natale, Aixa Müller. ....	126
<b>Development of a purpose for the implementation of a quality managment system in a clinical laboratory in Caracas – Venezuela</b> Briones N, Llada I, Bustamante Y.....	137
<b>Prevalence of Norovirus like gastroenteritis etiologic agent in venezuelan children</b> Fabiano F, Suárez J, Calvo A, Naranjo L.....	145



---

## EDITORIAL

---

Nuevamente este volumen aparece durante la realización de XV Congreso Venezolano de Bioanálisis (2012), nuestro máximo evento científico donde pasaremos 4 días actualizando nuestros conocimientos, compartiendo con los amigos y haciendo nuevas amistades.

Es importante destacar, que cada día los requerimientos de los laboratorios clínicos son más exigentes, se disponen de nuevas herramientas diagnósticas imprescindibles en el manejo de las enfermedades, de contar con resultados confiables que ayuden favorablemente en la toma de decisiones, marcando una tendencia global a validar metodologías de diagnóstico, estandarizar sistemas de reporte, implementar sistemas de gestión de la calidad y contar con sistemas de evaluación objetiva de la competencia técnica como lo es la acreditación, de ésta manera, demostrando el aporte del laboratorio en el diagnóstico, tratamiento, pronóstico y medición de riesgo.

Esto motivó a la Junta Directiva de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, a desarrollar un diplomado en Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico y en este año 2012, vamos por la realización del 2do grupo en el Diplomado de Bacteriología Clínica. Lo antes expuesto, apunta hacia un nuevo modelo de Sociedad Científica, en donde es indispensable la actualización y la excelencia del Profesional de Bioanálisis, que a la vez estimulan la investigación en las diferentes áreas de especialización y de ahí la generación de publicaciones científicas que nutran nuestro importante órgano de divulgación científica.

Queremos destacar las actividades realizadas por la Junta Directiva de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas y al Comité Organizador del XIV Congreso Venezolano de Bioanálisis (2010), en especial a su Presidente, Esp. Valmore Rodríguez. Gracias por el éxito alcanzado que permitió resaltar nuestra Sociedad.

Dra. Ana Monzón de Orozco  
Presidenta de la SVBE.





## TRIGLICÉRIDOS POSPRANDIALES Y SU RELACIÓN CON LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

M<sup>a</sup> Fátima Garcés<sup>1</sup>, Hilda Stekman<sup>1</sup>, Afdokia Bisarini<sup>2</sup>, Ramón Briceño<sup>2</sup>, Adriana Rivas<sup>3</sup>,  
Sinay Palma<sup>4</sup>, Mónica Zavala<sup>5</sup>, Francisco Hernández<sup>6</sup>

Aprobado para publicación marzo 2012. Publicado abril 2012

### RESUMEN:

**Introducción:** El estado posprandial constituye la condición metabólica habitual en la que se encuentra el ser humano diariamente. Algunos sujetos presentan aumento de los triglicéridos totales y de las lipoproteínas ricas en triglicéridos definiéndose como hiperlipemia posprandial, generando incrementos del estrés oxidativo, inflamación y disfunción vascular, además está asociada con el riesgo de enfermedad cardiovascular, que en los últimos años se ha convertido en la principal causa de muerte en todo el mundo. **Objetivo:** Evaluar la relación entre los niveles de triglicéridos posprandiales de sujetos cardiopatas y accidente cerebrovascular (ACV) con sujetos aparentemente sanos. **Metodología:** Se estudiaron 56 sujetos de los cuales 32 eran aparentemente sanos (clasificados según sus resultados de triglicéridos posprandiales en intolerantes a las grasas y tolerancia normal a las grasas), 11 con diagnóstico de cardiopatía y 13 con diagnóstico de ACV. A cada paciente se les realizó una extracción de sangre basal con 14 horas de ayuno, posteriormente se les suministró un desayuno de aproximadamente 24gr de grasa (una empanada de queso y un café). Se tomó muestras para el estudio de los niveles de triglicéridos (basal y posprandial 2 y 4 horas), colesterol total y sus fracciones, apolipoproteína A1 y B-100, fibrinógeno y proteína C reactiva ultrasensible. Se realizó TBARS para estimar los niveles de oxidación de las LDL y la prueba de afinidad de las LDL a proteoglicanos. Mediante eco doppler se evaluó el complejo miointimal carotideo. **Resultados:** Los pacientes cardiopatas e intolerantes a las grasas tuvieron niveles de triglicéridos por encima de los valores de referencia a las 2 y 4 horas después de comer ( $p < 0,001$ ). Las LDL del grupo de cardiopatas y ACV presentaron mayor afinidad a proteoglicanos y mayor oxidación que las LDL del grupo intolerante y normal ( $p < 0,001$ ). La relación Col/HDL y LDL/HDL fue mayor en el grupo intolerante y cardiopatas, indicando un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular. **Conclusión:** La medición de triglicéridos posprandiales pareciera ser un mejor predictor de riesgo cardiovascular que la medición de los mismos en ayuna, independientemente de los otros factores de riesgo cardiovascular.

**Palabras claves:** Hipertrigliceridemia posprandial, enfermedad cardiovascular, índices aterogénicos.

## POSTPRANDIAL TRIGLYCERIDE AND THEIR RELATION WITH THE CARDIOVASCULAR DISEASES

### SUMMARY

**Introduction:** The postprandial nonfasting state is the usual metabolic condition in the human. Some individuals had increased total triglycerides and triglyceride-rich lipoproteins, defined as postprandial hyperlipidemia, generating an increase in oxidative stress, inflammation and vascular dysfunction also is associated with cardiovascular disease risk, which in recent years has become the leading cause of death worldwide. **Aim:** Evaluate the relationship between postprandial triglyceride levels of subjects with heart disease and stroke with apparently healthy subjects. **Methods:** We studied 56 subjects of whom 32 were apparently healthy (classified according to their results of postprandial triglyceride in fat intolerant and normal tolerance to fat), 11 have diagnosis of heart disease and 13 with diagnosis of stroke. From every patient, we withdrew blood after 14 hours of fasting as baseline, then were given a breakfast of about 24gr of fat (a typical venezuelan breakfast, which consisted in a cheese empana and a coffee). Samples were taken at basal time and 2 and 4 hours postprandial to measure levels of triglycerides and also measure total cholesterol and its fractions, apolipoprotein A1 and B-100, fibrinogen and C-reactive protein. TBARS was performed to estimate the levels of LDL oxidation and proof affinity of LDL to proteoglycans. To evaluate the myointimal carotid complex we used a duplex Doppler echo. **Results:** Patients with heart disease and intolerance to fat had triglyceride levels above baseline values at 2 and 4 hours after eating ( $p < 0.001$ ). The level of LDL in the group of heart disease and stroke had higher affinity for proteoglycans and increased LDL oxidation than intolerant and normal group ( $p < 0.001$ ). The ratio Chol / HDL and LDL / HDL was higher in the intolerant and heart disease, indicating a risk factor for cardiovascular disease. **Conclusion:** The postprandial triglyceride measurement seems to be a better predictor of cardiovascular risk than measurement levels of triglyceride in fasting state, independently of other cardiovascular risk factors.

**Key words:** Postprandial triglyceride, cardiovascular disease, atherogenic index

---

**Solicitar copia a:** Dra. María Fatima Garcés Da Silva (mariafatimagarces@hotmail.com)

<sup>1</sup>Escuela de Bioanálisis, Cátedra de Bioquímica. Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, U.C.V. Caracas.

<sup>2</sup>Estudiante Escuela de Bioanálisis, Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, U.C.V., Caracas.

<sup>3</sup>Licenciada en Bioanálisis. Clínica Santiago de León, Caracas.

<sup>4</sup>Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

<sup>5</sup>Servicio de Radiología Hospital Universitario de Caracas.

<sup>6</sup>Facultad de Medicina. Escuela de Bioanálisis, Cátedra de Fisiología, U.C.V., Neurólogo Hospital Universitario de Caracas

## Introducción

La Organización Mundial de la Salud define las enfermedades cardiovasculares (ECV) como trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos, entre los que se incluyen las cardiopatías coronarias, los accidentes cerebrovasculares (ACV), el aumento de la tensión arterial (HTA), las cardiopatías congénitas y la insuficiencia cardíaca, entre otros (1).

Las ECV son la principal causa de muerte en todo el mundo, afectando de igual manera a hombres como a mujeres, principalmente al 80% de los habitantes en países con ingresos bajos y medios; ya que, carecen de acceso a métodos preventivos que se implementan en los países de ingresos altos. Anualmente mueren más personas por dichas enfermedades que por cualquier otra causa. Se calcula que en el 2005 murieron por ésta causa 17,5 millones de personas, representando un 30% de todas las muertes registradas en el mundo. Se calcula que en 2015 morirán cerca de 20 millones de personas por ECV, sobre todo por cardiopatías y accidentes cerebro vasculares (ACV), y se prevé que sigan siendo la principal causa de muerte en el mundo (2).

En Venezuela, México, Argentina y Brasil, se encontró que la HTA, la obesidad y la hipertrigliceridemia (triglicéridos superior a 150 mg/dL en sangre) se ubican entre los cinco principales factores de riesgo de ECV (3). La relación entre esta última y la ECV se encuentra aún en discusión. Recientemente se ha propuesto que los remanentes de quilomicrones (QM) y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) presentes en el suero posprandial podrían jugar un papel en el desarrollo de la aterosclerosis, indicando así que medir los niveles de triglicéridos (TG) sin estar en ayunas puede ser más efectivo para evaluar estos riesgos (4).

Varios estudios han mostrado que después de una comida grasa, los niveles de triglicéridos son mayores en los pacientes con enfermedad coronaria. Esta anomalía puede explicar porque algunos individuos desarrollan arterosclerosis a pesar de tener un perfil lipídico normal en ayuna. Este síndrome de intolerancia a los triglicéridos se debe a la imposibilidad de procesar las lipoproteínas cargadas de triglicéridos, lo que aumenta el riesgo arteriosclerótico (5-7).

El incremento exagerado en el plasma de las concentraciones de triglicéridos como consecuencia del aumento del tiempo de residencia de estas lipoproteínas transportadoras,

se denomina lipemia postprandial (8).

Comúnmente los TG son medidos de forma rutinaria en ayunas debido a su metabolismo, sin embargo, a excepción de las primeras horas de la madrugada, la mayoría de los individuos están en el estado posprandial la mayor parte del tiempo. La aterosclerosis puede ser un fenómeno posprandial en el que las lipoproteínas remanentes desempeñan un papel dominante. Es por esto que el presente estudio tiene como objetivo determinar si el aumento de los niveles de TG posprandiales puede ser un factor predictivo de riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

## Métodos

### Población de estudio

La población a estudiar estuvo conformada por 56 sujetos, que voluntariamente aceptaron participar en el estudio; veinticuatro (24) sujetos conforman el grupo de casos, de estos once (11) presentan diagnóstico confirmado de accidente cerebro vascular isquémico lateral (grupo ACV) y trece (13) presentan diagnóstico confirmado de infarto al miocardio y/o angina de pecho (grupo cardiópata). Treinta y dos (32) sujetos aparentemente sanos conforman el grupo de controles, de los cuales diecinueve (19) arrojaron niveles de triglicéridos posprandiales dentro del rango de referencia biológico (llamado grupo con tolerancia normal a las grasas) y trece (13) arrojaron niveles de triglicéridos posprandiales por encima del rango de referencia biológico (llamado grupo con intolerancia a las grasas o intolerantes).

### Normas de bioética

El protocolo del estudio se realizó bajo las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en humanos y la declaración de Helsinki ratificada por la 29th World Medical Assembly, Tokio 1995 y contó con el consentimiento informado de los participantes en el estudio (9).

### Obtención de las muestras

A los sujetos se les tomó 10 mL de sangre en ayunas (14 horas aproximadamente), la muestra fue extraída por punción venosa, previa asepsia de la región anterior del brazo, y tomando las medidas y consideraciones necesarias para evitar la éxtasis venosa y hemólisis, las muestras fueron repartidas en un tubo con anticoagulante EDTA y un tubo sin anticoagulante. Posteriormente se les suministró un desayuno que consistió en una



(1) empanada con una carga de 20 gr de grasa y un café con leche con una carga de 4 gr de grasa (para un total de 24 gr de grasas) y bajo la misma técnica se tomaron 10mL de sangre a las 2 horas y 10mL de sangre a las 4 horas posterior a la ingesta de este alimento. La muestra fue centrifugada en un lapso no mayor de 30 minutos a 3.000 g en una centrifuga refrigerada a 4°C por 15 min. El suero y el plasma fueron almacenados en alícuotas, a -70°C hasta el análisis respectivo.

### Determinaciones de laboratorio

Se determinó glucosa, colesterol y triglicéridos en equipo automatizado Metrolab 2300 plus de Wiener Lab. Electroforesis de colesterol en equipo automatizado de Helena Laboratories SAS-1. Las concentraciones de ApoA1 y ApoB se determinaron usando un ensayo de Inmunodifusión radial, empleando un kit comercial (LTA Apolipoproteína A1 y B RID). La concentración plasmática de fibrinógeno se determinó mediante el equipo automatizado Amelung Amax 190 (Siemens). Empleando inmunoensayo enzimático adsorbente (ELISA), se determinó Proteína C Reactiva ultrasensible (PCRus) (DRG International, Marburg, Alemania).

Unión de LDL a los proteoglicanos arteriales condroitin sulfato (PGCS): Para realizar el test previamente se aislaron las LDL por ultracentrifugación diferencial secuencial en una Ultracentrifuga Sorvall modelo COMBI PLUS (Dupont companies, New Town, Escocia). El efecto de PGCS sobre LDL se midió de la siguiente forma: La LDL y el PGCS fueron previamente equilibrados en un tampón de baja fuerza iónica, compuesto por Hepes 5 mM, NaCl 20 mM, CaCl<sub>2</sub> 4 mM, MgCl<sub>2</sub> 2 mM pH 7,2 el cual se denominó tampón A. Seguidamente se determinó la reactividad de las LDL por el proteoglicano arterial, de acuerdo al método diseñado por Camejo y col 1992 (10). Para ello se midió la interacción entre 1 mL de proteoglicanos (que contienen 4 ug/mL de hexuronato) con 50 µg de colesterol de LDL.

Oxidación de las LDL por el método de TBARS: La determinación de sustancias reactivas al ácido barbitúrico representa los niveles de malondialdehído, un producto final de lipoperoxidación. Se procedió de acuerdo al método espectrofotométrico descrito por Wallin y col, basado en la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBA) con el grupo aldehído del compuesto malonaldehído, formando un aducto (TBA-MDA) cromóforo rosado con un máximo de absorción a 532 nm (11).

Se empleo Eco doppler para evaluar el complejo miointimal carotideo.

### Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media  $\pm$  una desviación estándar ( $X \pm DS$ ), se empleó el programa Excel 5.0 (Copyright MicrosoftOffice, Washington, USA) para estadística descriptiva. Las comparaciones entre variables se hicieron empleando la prueba "t" de Student, se consideró estadísticamente significativo valores de  $p < 0,05$ .

### Resultados

En el estudio se incluyeron sujetos que acudieron al Laboratorio de Ciencias Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis de la UCV (n=32) y pacientes del servicio de Cardiología y Neurología del Hospital Universitario de Caracas-HUC (n=24) para el período comprendido entre Abril 2010 a Mayo 2011 conformando un total de 56 sujetos. El grupo de sujetos aparentemente sanos se dividió a su vez en tolerancia normal e intolerantes a las grasas según los resultados de triglicéridos posprandiales (Figura 1).

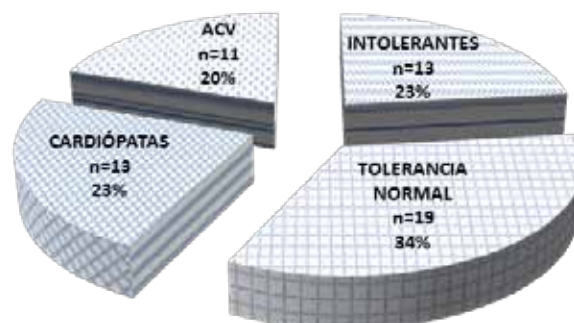


Figura 1. Distribución de pacientes según el grupo en estudio

En la tabla 2 se muestra un resumen de algunas de las características generales de los sujetos que participaron en el estudio. Fumar, ingerir bebidas alcohólicas, hipertensión arterial se consideran como factores de riesgo cardiovascular independientes. Se observa que el consumo de agentes hipolipemiantes es de 88% en los sujetos cardiopatas y 100% en sujetos con ACV. A su vez se obtuvo un mayor porcentaje de sujetos con hipertensión arterial en el grupo de cardiopatas con un 83%, mientras que en el grupo ACV fue de un 72%. El grupo con mayor porcentaje de consumo de alcohol y fumadores se observó en los pacientes con cardiopatías y ACV.

**Tabla 2: Características Generales de los grupos en estudio**

Parámetro	Cardiopatías	ACV	Intolerantes	Tolerancia Normal
Edad en años (X±DS)	62 ± 8	59 ± 11	51 ± 7	46 ± 6
Fumadores (%)	50	67	17	5
Consumo de alcohol (%)	29	50	17	11
Actividad física (%)	58	8	58	39
Obesos (%)	25	22	18	6
Tratamiento con hipoglicemiantes (%)	88	100	0	0
Hipertensión arterial (%)	83	73	0	0

En la tabla 3 se presentan los parámetros bioquímicos obtenidos para cada uno de los grupos en estudio. Se observa que los niveles de glucosa se encuentran por encima de los niveles de referencia en el grupo de cardiopatías y ACV, mientras que los grupos intolerantes y con tolerancia normal se encuentran dentro de los valores de referencia. En cuanto al colesterol se observó que el grupo intolerante presenta los niveles más elevados con un valor de 206 ± 35 mg/dL.

Sobre los niveles de triglicéridos podemos decir que todos los grupos presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo con tolerancia normal. Solo los pacientes cardiopatías presentaron niveles basales ligeramente elevados (158 ± 86 mg/dL).

Los niveles de Apolipoproteína A1 para los

pacientes intolerantes, cardiopatías y con ACV no mostraron diferencia significativa, comparados con respecto al grupo con tolerancia normal y los cuatro grupos presentaron valores ubicados dentro del rango de referencia biológica.

Los niveles de Apolipoproteína B, si presentaron diferencia estadísticamente significativa en los tres grupos comparados con el grupo con tolerancia normal, observándose los niveles más elevados en el grupo de intolerantes (165,1 ± 35,0 mg/dL) seguidos del grupo de pacientes con ACV (153,3 ± 44,9 mg/dL), mientras que los pacientes cardiopatías presentan valores que se acercan al límite superior del rango de referencia.

Con respecto a la determinación de los niveles de fibrinógeno y PCRus se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa entre los sujetos cardiopatías e intolerantes con respecto al grupo con tolerancia normal para ambos parámetros, sin embargo, podemos apreciar valores significativamente elevados para fibrinógeno y PCRus en el grupo de sujetos con ACV y sus niveles séricos se encuentran por encima del rango de referencia biológico.

En la figura 2 se observa que existe diferencia significativa entre los niveles de triglicéridos basales, a las 2 horas y 4 horas de todos los grupos en estudio con respecto al grupo con tolerancia normal (p < 0,001). Cabe destacar que tanto los grupos intolerantes como cardiopatías los niveles de triglicéridos a las 2 y 4 horas están por encima de los rangos de referencia.

En la figura 3 se muestra la relación entre los niveles de LDL y Apolipoproteína B. Al observar los valores de colesterol, no se apreció diferencia significativa entre los grupos de estudio, sin embargo, al analizar la relación LDL/ApoB se encuentra una diferencia significativa entre el grupo de cardiopatías y el grupo de ACV con

**Tabla 3: Parámetros Bioquímicos de los grupos en estudio**

Parámetros	Cardiopatías N= 13	ACV N= 11	Intolerantes N= 13	Tolerancia Normal	Valor de referencia N= 19
Glucosa (mg/dL)	109 ± 19	127 ± 63	97 ± 8	92 ± 7	70 - 100
Colesterol (mg/dL)	160 ± 39	183 ± 55	206 ± 35	174 ± 34	0 - 200
Triglicéridos (mg/dL)	158 ± 86 ***	135 ± 24 ***	130 ± 23 ***	79 ± 32	30 - 150
Apo A1 (mg/dL)	183,4 ± 39,2	175,2 ± 36,8	196,2 ± 57,7	167,1 ± 41,0	102 - 215
Apo B (mg/dL)	143,4 ± 29,9 *	153,3 ± 44,9 *	165,1 ± 35,0 ***	123,3 ± 35,6	60 - 145
Fibrinógeno (mg/dL)	282 ± 66	391 ± 153 **	245 ± 52	258 ± 58	180 - 350
PCRus (mg/L)	2,4 ± 1,5	19,3 ± 13,4 ***	4,8 ± 6,6	2,4 ± 2,5	< 5

Las variables son presentadas como la media ± DS \* p < 0,05 comparado con el grupo con tolerancia normal \*\* p < 0,01 comparado con el grupo con tolerancia normal \*\*\* p < 0,001 comparado con el grupo con tolerancia normal

respecto al grupo con tolerancia normal.

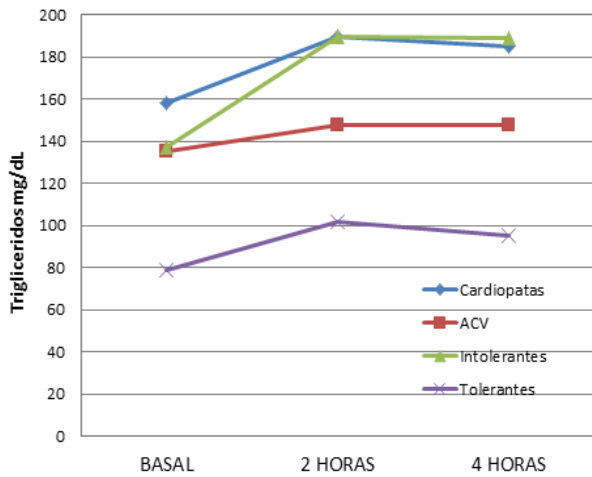


Figura 2. Concentración de Triglicéridos en función del tiempo transcurrido después de la ingesta de una comida estándar

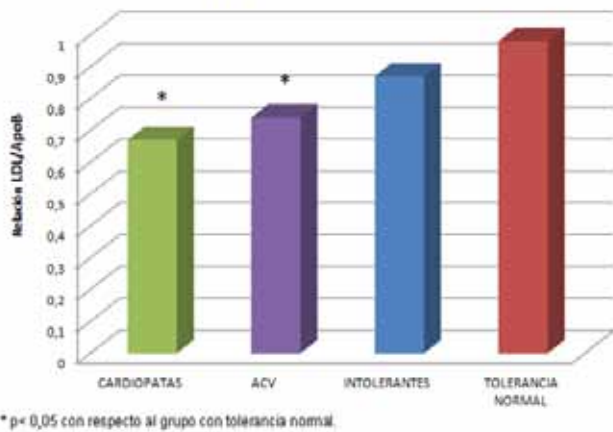


Figura 3. Relación LDL/Apolipoproteína B en los grupos de estudio.

En la figura 4 se observa que hay una mayor afinidad de las LDL por los proteoglicanos en los grupos cardiopatas y ACV con respecto a los grupos intolerantes y con tolerancia normal, siendo esta estadísticamente significativa.

En la figura 5 se observa que las LDL de los sujetos de los grupos cardiopatas y ACV están más oxidadas que la de los grupos intolerantes y con tolerancia normal.

En la figura 6 observamos que los grupos de cardiopatas e intolerantes tienen una relación ColT/HDL aumentada estadísticamente significativa en comparación con el grupo de ACV y con tolerancia normal. Así mismo

se observa que el grupo de intolerantes presenta una relación LDL/HDL mayor con respecto al resto de los grupos.

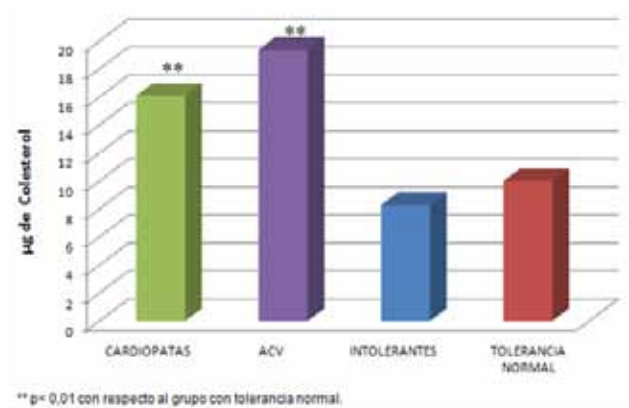


Figura 4. Afinidad de LDL a proteoglicanos.

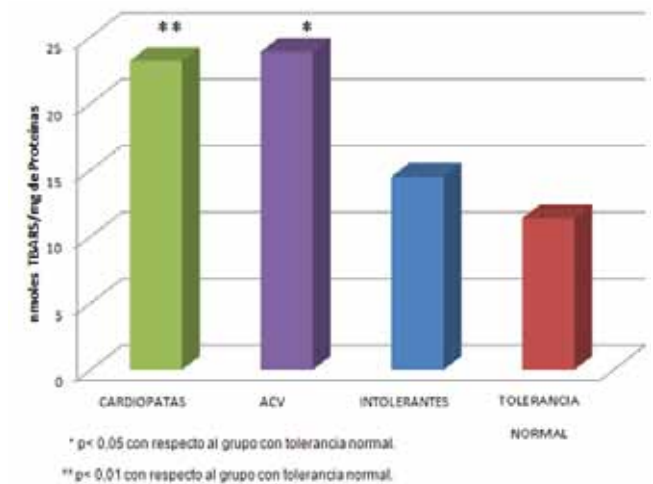


Figura 5. Oxidación de LDL.

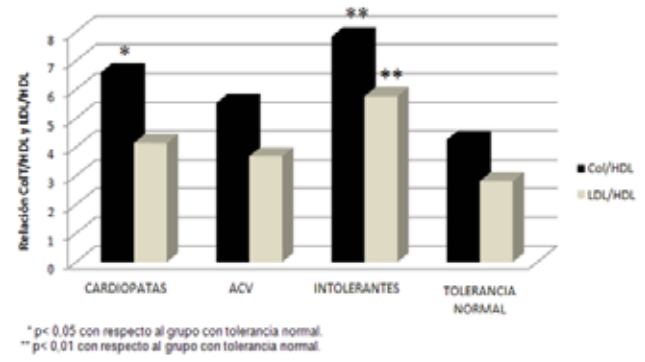


Figura 6. Relación Col T/HDL y LDL / HDL por grupo en estudio.

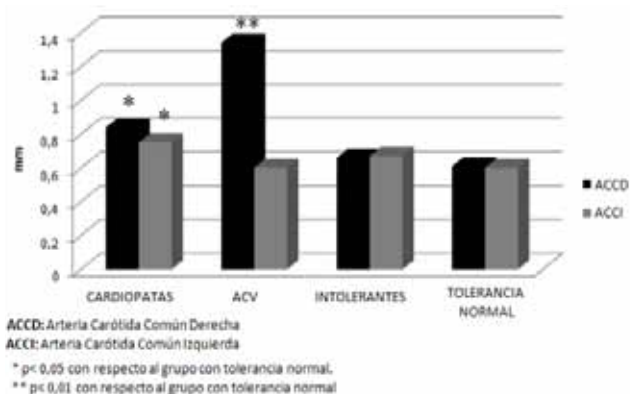
**Tabla 4: Riesgo Relativo (RR) para los grupos en estudio**

	Intolerantes n=13	Tolerancia normal n=19	RR (IC 95%)	p
Rel Col/HDL > 5	10	2	5,6 (1,9-13,6)	0,001***
Rel Col/HDL < 5	3	17		
	Intolerantes n=13	Tolerancia normal n=19	RR (IC 95%)	p
Rel LDL/HDL > 3,6	8	1	3,7(1,5-5,2)	0,004**
Rel LDL/HDL < 3,6	5	16		
	ACV n=11	Tolerancia normal n= 19	RR (IC 95%)	p
Rel Col/HDL > 5	5	2	2,7(0,9-5,0)	ns
Rel Col/HDL < 5	6	17		
	ACV n=11	Tolerancia normal n= 19	RR (IC 95%)	P
Rel LDL/HDL > 3,6	4	1	2,6(0,8-3,8)	ns
Rel LDL/HDL < 3,6	7	16		
	Cardiópatas n=13	Tolerancia normal n=19	RR (IC 95%)	p
Rel Col/HDL > 5	7	2	3,0(1,2-5,0)	0,023*
Rel Col/HDL < 5	6	17		
	Cardiópatas n=13	Tolerancia normal n=19	RR (IC 95%)	p
Rel LDL/HDL > 3,6	7	1	3,2(1,3-4,3)	0,012*

ns no significativo. \* p < 0,05 comparado con el grupo con tolerancia normal. \*\* p < 0,01 comparado con el grupo con tolerancia normal. \*\*\* p < 0,001 comparado con el grupo con tolerancia normal.

En la tabla 4 se muestran los valores de Riesgo Relativo (RR) para la relación Colesterol Total/HDL y LDL/HDL para los grupos en estudio con un intervalo de confianza del 95%.

En la figura 7, se muestra la dimensión del complejo mioíntimal. Se observa que el grupo de cardiópatas y ACV presenta un grosor mioíntimal mayor que el grupo con tolerancia normal



**Figura 7. Dimensión del complejo mioíntimal.**

## Discusión

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial. Los ataques al corazón y los accidentes cerebrovasculares suelen ser fenómenos agudos que se deben sobre todo a obstrucciones que impiden que fluya la sangre hacia el corazón o el cerebro. La causa más frecuente es la formación de depósitos de grasa en las paredes de los vasos sanguíneos que irrigan el corazón o el cerebro (12).

El concepto clásico de la aterosclerosis ha cambiado desde el modelo en el que el metabolismo lipídico juega el rol principal al de una enfermedad inflamatoria. La aterosclerosis involucra los mecanismos de la inmunidad celular y humoral. La disfunción del endotelio vascular y la retención de lipoproteínas en la íntima arterial, han sido señaladas como los eventos más tempranos en la aterogénesis, promoviendo la liberación de citoquinas y quimoquinas que contribuyen al reclutamiento de leucocitos. Los proteoglicanos de la íntima arterial, retienen y modifican las lipoproteínas aumentando su tasa de fagocitosis en macrófagos, mediada en su mayoría por los receptores scavenger clase A y clase B en el caso de

las lipoproteínas oxidadas (LDLox), provocando la producción de citoquinas como el Factor de Necrosis Tumoral (TNF)- $\alpha$ , Interleuquina (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 e IL-18, entre otras, que permiten la activación de células T en linfocitos T cooperadores (Th1), capaces además de reconocer como autoantígenos epítomos específicos sobre las LDLox y las proteínas de shock térmico, amplificándose así la respuesta inflamatoria. Los macrófagos que han internalizado lipoproteínas, se transforman en células espumosas, que acumuladas en la íntima arterial constituyen las estrías de grasas, primera etapa de la aterosclerosis (13).

Al observar los niveles de colesterol, en la tabla 3 para el grupo intolerantes ( $206 \pm 35$  mg/dL) podemos apreciar que estos se encuentran por encima de los valores de referencia con respecto al grupo con tolerancia normal ( $174 \pm 34$  mg/dL). Al realizar la misma comparación entre el grupo cardiopatas ( $160 \pm 39$  mg/dL) y grupo ACV ( $183 \pm 55$  mg/dL) con el grupo con tolerancia normal no existe una diferencia significativa en los niveles, esto puede ser debido y como se aprecia en la tabla 2 que un alto porcentaje de cardiopatas y la totalidad de los casos con ACV consumen medicamentos hipolipemiantes como Atorvastatina con los cuales se busca mantener niveles de colesterol controlados.

Con respecto a la PCRus, esta es una proteína de fase aguda que es utilizada como marcador predictivo de un proceso inflamatorio en el endotelio vascular. Diversos autores mediante estudios epidemiológicos demostraron que la PCRus podía ser un marcador de disfunción endotelial y de aterosclerosis, por lo tanto de riesgo cardiovascular (14,15).

En la PCRus del grupo de pacientes con ACV observamos niveles elevados estadísticamente significativos con respecto al grupo con tolerancia normal, debido a que estos pacientes poseen alteraciones características de la enfermedad ateromatosa en el endotelio vascular como son placas cálcicas y estenosis, las cuales fueron observadas en un gran porcentaje de estos pacientes durante la realización del eco doppler carotideo. Analizando los niveles encontrados en el grupo de cardiopatas y de intolerantes se aprecian valores considerados dentro del rango de referencia.

Así mismo al estudiar los valores obtenidos de fibrinógeno observamos niveles elevados estadísticamente significativos al comparar el grupo ACV con el grupo con tolerancia normal.

El fibrinógeno plasmático es un importante componente de la cascada de la coagulación, así como uno de los principales determinantes

de viscosidad y flujo sanguíneo. Los niveles elevados de fibrinógeno en plasma representan un factor de riesgo independiente para ECV. En los pacientes con ACV, las concentraciones de fibrinógeno aumentan tras dicho evento. Ello también ha sido atribuido a una reacción de fase aguda, subsiguiente a la necrosis de tejido cerebral (16). En un estudio prospectivo en pacientes supervivientes de un ACV, el fibrinógeno estaba significativamente aumentado. Así mismo ha sido ampliamente observado que un paciente que haya padecido algún evento coronario agudo se desencadena hiperfibrinogenemia transitoria (17).

Al momento de observar los resultados obtenidos para PCRus y fibrinógeno con relación al grupo cardiopata esperaríamos valores más elevados de ambos parámetros, sin embargo, atribuimos estos resultados a que estos pacientes son catalogados como cardiopatas crónicos en los cuales el evento cardiovascular ocurrió con una media de hace 2 años manteniéndose en tratamiento desde su diagnóstico.

Diversos estudios demuestran que en la mayoría de los casos, más del 90% de los niveles séricos de ApoB está unido a LDL. Cuando los niveles de LDL normales o disminuidos se acompañan de valores aumentados de ApoB pueden indicar un incremento en el número de partículas pequeñas y densas de LDL, las cuales son altamente aterogénicas y fácilmente oxidables, y promueven la respuesta inflamatoria así como la agregación plaquetaria (18-21).

El periodo posprandial constituye el estado metabólico habitual en el que se encuentra el ser humano a lo largo del día. En algunos sujetos se produce un aumento de los triglicéridos totales y de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de origen intestinal y hepático tras la ingesta de alimentos ricos en grasa. La hiperlipemia posprandial tiene relevancia clínica por su relación con el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina, ya que genera un incremento del estrés oxidativo, la inflamación y disfunción vascular, y además está asociada con el riesgo de enfermedad cardiovascular (22).

En la figura 2 al observar los niveles de triglicéridos en estado basal y en estado posprandial luego de la administración de una dieta con una carga promedio de 24 gr de grasas se aprecia que los sujetos cardiopatas e intolerantes tienen niveles por encima de los valores de referencia a las 2 y 4 horas, estimando su punto más alto a las 3 horas a diferencia de otros estudios como el de Van Oostrom 2009 (23) y Nordestgaard 2010 (4) donde obtienen el punto más alto a las 4 horas empleando

un test de tolerancia a las grasas.

Actualmente existen diversos test que permiten de cierto modo evaluar los niveles de triglicéridos posprandiales (22), sin embargo, todos han demostrado una relación estadísticamente significativa entre los niveles elevados de triglicéridos posprandiales y el riesgo de enfermedad cardiovascular.

Con respecto a la relación LDL/Apo B, se observa en la figura 3 una relación baja estadísticamente significativa en los grupos cardiopatas y ACV  $0,67 \pm 0,16$  mg/L y  $0,64 \pm 0,14$  mg/L respectivamente ( $p < 0,05$ ).

La determinación de los niveles de Apo B se podría considerar una medida indirecta del número total de partículas, debido a que cada LDL tiene una molécula de Apo B. En este caso, los pacientes del grupo cardiopata y ACV parecieran tener más partículas de LDL que el grupo de pacientes con tolerancia normal. Esto sugiere que estas LDL deben ser del fenotipo de partículas pequeñas y densas.

Con relación a la afinidad de las LDL a proteoglicanos de condroitín sulfato (PGCS) expresados en la figura 4, se observó que las LDL de los grupos cardiopatas y ACV tienen mayor afinidad que las LDL de los de los grupos con tolerancia normal e intolerantes, con una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ). La interacción entre la LDL y los proteoglicanos permite sugerir que los proteoglicanos podrían retener a la LDL en la matriz extracelular, lo que favorecería la aparición de modificaciones estructurales (24) hidrolíticas (25) y oxidativas (26) de la lipoproteína que haría a las LDL agentes altamente citotóxicos iniciadores de la respuesta inflamatoria del tejido, todo lo cual culminaría en una lesión proliferativa de la íntima y media arterial.

La íntima arterial normal y las regiones con predisposición al desarrollo de la lesión aterosclerótica son ricas en PGCS y el contenido de estos proteoglicanos aumenta a medida que avanza la lesión y predispone a la pared arterial a la acumulación de lípidos, calcificación y trombosis debido a la propiedad de estos proteoglicanos de interactuar con componentes moleculares implicados en estos procesos (27,28). Esto sugiere entonces que las lipoproteínas de los sujetos con enfermedades cardiovasculares tienen mayor afinidad por los PGCS debido probablemente a que estas LDL son del fenotipo pequeñas y densas que exponen residuos de aminoácidos cargados positivos que se unen fuertemente a las cargas negativas de los proteoglicanos.

En un estudio realizado por Hurt-Camejo y col (29) reportaron que las diferencias en la afinidad de la LDL por el PG se debían a una subclase especial de partículas de LDL que tenía una menor cantidad de lípidos totales y un alto porcentaje de ésteres de colesterol e indicaron que el área ocupada por los lípidos polares, fosfolípidos y colesterol, estaba inversamente relacionada con la afinidad y sugirieron que la LDL con mayor afinidad por el PG tenía 20 a 30% más área accesible para el otro componente de superficie que era la apo B100.

Otro estudio realizado en Maracaibo en el 2004 por Baron, L. y col. estudiaron a 30 sujetos de los cuales 20 sujetos eran fumadores y 10 sujetos no fumadores, demostrando que las LDL de los fumadores tenían mayor afinidad por el PG que las LDL de los no fumadores (28), este resultado fue semejante al reportado por Linden y col (30) para las LDL aisladas de pacientes que habían sufrido un infarto, lo que podría sugerir que una LDL con alta afinidad por los PGs aumentaría la probabilidad de formación de complejos LDL-PG en la íntima arterial contribuyendo al inicio de la lesión aterosclerótica y al desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

Al analizar los resultados expresados en la figura 5, se obtuvo que los grupos cardiopatas y ACV presentan niveles de oxidación, expresados en nmoles de TBARS/mg de proteínas más elevados, lo que significa que tienen un mayor grado de oxidación que el grupo de tolerantes. Las LDL oxidadas son tóxicas para las células del endotelio lo que puede generar disfunción endotelial y paso de esas lipoproteínas al espacio subendotelial haciendo que progrese la lesión aterosclerótica, especialmente en aquellas zonas del árbol arterial donde se producen bifurcaciones, ramificaciones o curvaturas, en donde los patrones de flujo sanguíneo se ven alterados (31). Los sujetos con ACV presentaban en su mayoría lesiones ateroscleróticas en las arterias carótidas lo que corresponde con los niveles elevados de LDL oxidada y además con alta afinidad a los proteoglicanos. Con respecto al grupo de cardiopatas a pesar de que tenían niveles de oxidación y afinidad a proteoglicanos elevados no se observó placas en las arterias carótidas por lo que se debería realizar eco doppler en otras arterias como las coronarias, basilar y en las grandes arterias elásticas como la aorta, las ilíacas y las femorales (32) ya estas arterias también sufren con frecuencia lesiones ateroscleróticas.

A su vez, se aprecia que tanto el grupo de cardiopatas como el grupo de ACV tienen un alto porcentaje de sujetos fumadores, sugiriendo así la asociación

que existe entre fumar, proceso aterogénico y enfermedades cardiovasculares, ya que se sabe que el fumar induce estrés oxidativo y este se reconoce como un factor de riesgo primario en la aterosclerosis y en el desarrollo de enfermedades coronarias (33). El mecanismo parece incluir modificaciones oxidativas de la LDL, haciéndolas más aterogénicas. También se ha demostrado que la LDL de fumadores es reconocida y captada por macrófagos en un mayor grado que la LDL de los no fumadores (34).

Un estudio realizado en el 2005 por Kopprasch, S y col. en Alemania encontraron mayores niveles circulantes de LDL oxidadas en pacientes con enfermedad arterial coronaria en comparación con los pacientes sanos (35). En otro estudio realizado por Wang y Greilberger en Austria, sugiere que es la matriz extracelular la que retiene la LDL en la íntima en el estadio inicial de la enfermedad presentando una mayor unión que aumenta con el grado de oxidación de las LDL, especialmente en las primeras etapas de la aterogénesis, y disminuye con la progresión de la lesión (36).

Al analizar los índices aterogénicos ColT/HDL y LDL/HDL expresados en la figura 6 se observa un aumento estadísticamente significativo para ColT/HDL en los grupos intolerantes y cardiopatas con respecto al grupo con tolerancia normal ( $p < 0,01$  y  $p < 0,05$  respectivamente). Cuando la relación ColT/HDL conocida como índice de Castelli se encuentra entre 3,4 a 4,5 indica que la concentración de HDL es suficiente para cumplir eficientemente el transporte reverso del colesterol, mientras que cuando esta relación está por encima de los valores mencionados indica que ese colesterol no puede ser removido completamente y podría depositarse en la pared de los vasos sanguíneos en forma de LDL y VLDL remanente. Es importante destacar que el riesgo relativo para éste índice de los sujetos intolerantes y cardiopatas fue 5,6 y 3,0 veces más susceptible a desarrollar enfermedad cardiovascular que el grupo con tolerancia normal, esto especialmente importante para el grupo de intolerantes debido a que son sujetos aparentemente sanos en ayunas.

Por otra parte, otro índice aterogénico muy empleado es la relación LDL/HDL; esta relación tiene un valor predictivo mayor que el anterior debido a que emplea el LDL, es decir, la lipoproteína más aterogénica. Cuando este índice se encuentra entre 2,5 y 3,0 indica que el equilibrio está desplazado hacia la lipoproteína antiaterogénica por lo tanto ofrece un menor riesgo a desarrollar aterosclerosis. Este índice se emplea cuando los niveles de triglicéridos son menores de 300 mg/dL,

ya que de lo contrario se subestimaría las VLDL, esto fue demostrado en Helsinki Heart Study (37).

Por lo tanto, al analizar el grupo de intolerantes, existe un desbalance entre el colesterol transportado por las lipoproteínas aterogénicas y las lipoproteínas antiaterogénicas o protectoras. Esto se debe a que existe un incremento en el componente aterogénico contenido en el numerador, y una disminución del componente antiaterogénico contenido en el denominador. Por lo tanto, el exceso de colesterol que no puede ser removido eficientemente por las HDL se estaría depositando en la íntima de la pared arterial, contribuyendo así a la formación del ateroma.

Con respecto al riesgo relativo para éste índice en los sujetos intolerantes y cardiopatas fue 3,7 y 3,2 veces más susceptible a desarrollar enfermedad cardiovascular que el grupo con tolerancia normal, esto es especialmente importante para el grupo de intolerantes debido a que tendrían alta susceptibilidad a desarrollar enfermedad cardiovascular.

El estilo de vida que lleva la sociedad actual hace que nuestro organismo pase la mayor parte del día en estado posprandial y curiosamente, la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular estudiados en el laboratorio clínico como son los triglicéridos y colesterol, son valorados en sujetos que se encuentran en estado de ayuno.

Sin embargo, todavía no contamos con un instrumento clínico estandarizado que sirva de herramienta para valorar la lipemia posprandial. A nivel internacional varios autores han propuesto numerosos métodos, desde cargas estandarizadas de grasa en función del área de superficie corporal hasta dietas con diversas porciones de alimentos comunes ricos en grasas, carbohidratos y proteínas, esto aunado a una amplia heterogeneidad con respecto a la respuesta de cada individuo ha demostrado así la importancia de estandarizar una prueba de modo similar al test de sobrecarga oral de glucosa, que sirva para valorar con mayor precisión el riesgo cardiovascular que conlleva la hipertrigliceridemia posprandial.

## Conclusiones

El aumento en los niveles de triglicéridos posprandiales predice mejor el riesgo de enfermedad cardiovascular que los medidos en estados de ayuno, independientemente de otros factores de riesgo cardiovascular. Los sujetos intolerantes a las grasas presentan niveles elevados de triglicéridos posprandiales, sumado a elevaciones en los índices aterogénicos lo cual

sugiere una alta susceptibilidad a desarrollar enfermedad cardiovascular.

### Agradecimientos

El proyecto fue financiado por la Coordinación de Investigación, Medicina, UCV. Agradecemos al Laboratorio de Producción y Control de Calidad, Corpodiagnostica C.A., a Grupo Evo-Lab C.A. a Laboratorio Inmunofuturo XXI C.A. y al Hospital Universitario de Caracas.

### Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Prevention of recurrent heart attacks and strokes in low and middle income populations: evidence-based recommendations for policy-makers and health professionals. Ginebra, 2003.
2. Organización Mundial de la Salud. Prevention of Cardiovascular Disease. Guidelines for assessment and management of total cardiovascular risk. Ginebra, 2007.
3. Organización Panamericana de Salud. La Salud en las Américas. 2004;587(2):203-210
4. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting Triglycerides and Risk of Myocardial Infarction, Ischemic Heart Disease, and Death in Men and Women. JAMA. 2007;298:299-308
5. Kolovou, Genovefa, Katherine, Clinical Relevance of Postprandial Lipemia, Current Medicinal Chemistry. 2005;12:1931-1945.
6. Anton F.H. Stalenhoef, J. De Graaf; Association of fasting and nonfasting serum triglycerides with cardiovascular disease and the role of remnant-like lipoproteins and small dense LDL. Current Opinion in Lipidology. 2008;19:355-361.
7. Troyo-Barriga P. Obesidad y dislipemias. Gac Med Mex. 2004;140(2):S49-S57.
8. Obregon O, Lares M, Castro J, Sara B, Vecchionacce H, Castillo M. Tolerancia de Grasas: Sencilla Prueba Para Detectar Pacientes de Alto Riesgo de Enfermedad Cardiovascular. Revista de la Facultad de Medicina. 2005;28(2):159/162.
9. Gofman JW, Young W, Tandy R. Ischemic heart disease, atherosclerosis and longevity. Circulation. 1966;34:679-697.
10. Hurt-Camejo E, Paredes S, Masana L, Camejo G, Sartipy P, Rosengren B, Pedreno J, Vallve JC, Benito P, Wiklund O. Elevated levels of small, low-density lipoprotein with high affinity for arterial matrix components in patients with rheumatoid arthritis: possible contribution of phospholipase A2 to this atherogenic profile. Arthritis Rheum. 2001;44:2761-2767.
11. Camejo, G., Wallin, B., Rosengren, B. and Shertzer, H. Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: Its use for evaluation of antioxidants. Anal. Biochem. 1993;208:10-15.
12. OMS. Enfermedades Cardiovasculares. Temas de Salud. [citado 29 Enero 2011]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
13. Rodriguez G, Mago N, Rosa F. El papel de la inflamación en la aterogénesis. Invest Clín. 2009;50(1):109-129.
14. Pepys MB; Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. J Clin Invest. 2003;111:1805-1812.
15. Yeh ET; Willerson JT. Coming of age of C-reactive protein: using inflammation markers in cardiology. Circulation. 2003;107:370-372.
16. Coull BM, Beamer N, De Garmo P y col. Chronic blood hyperviscosity in subjects with acute stroke, transient ischemic attack, factors for stroke. Stroke. 1991;22:162-168.
17. Resch KL, Ernest E, Matrai A, Paulsen HF. Fibrinogen and viscosity, risk factors for stroke survivors. Ann Intern Med. 1992;117:317-375
18. Walldius G, Jungner I. Apolipoprotein B and apolipoprotein A-I: risk indicators of coronary heart disease and targets for lipid-modifying therapy. J Intern Med. 2004; 255(2):188-205.
19. Marcovina S, Packard CJ. Measurement and meaning of apolipoprotein AI and apolipoprotein B plasma levels. J Intern Med. 2006;259:437-446.
20. Elovson J, Chatterton JE, Bell GT et al. Plasma very low density lipoproteins contain a single molecule of apolipoprotein B. J Lipid Res. 1988;29:1461-1473.
21. Sniderman AD, Furberg CD, Keech A y col. Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary risk and as targets for statin therapy treatment. Lancet. 2003;361:777-780.
22. Cardona F, Tinahones F. Relación entre la lipemia posprandial y la aterosclerosis. De la práctica a la clínica. Nutrición Clínica en Medicina. 2008;Vol II(1):1-11.
23. Van Oostrom A, Alipour A, Sijmonsma T, Verseyden C, Dallinga-Thie G, Plokker H, Castro Cabezas M. Comparison of different methods to investigate postprandial lipaemia. Neth J Med. 2009;67(1):13-20.
24. Camejo G, Lopez F. Modifications of low density lipoprotein induced by arterial proteoglycans and chondroitin-6-sulfate. Biochim Biophys Acta. 1991;1096(3):253-261.
25. Aviram M, Maor I. Phospholipase A2 modified LDL is



- taken up at an enhanced rate by macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;185(1):465-472.
26. Navab M, Berliner J, Watson A, Hama S, Territo M, Lusis A, Shih D, Van Lenten B, Frank J, Demer L, Edwards P, Fogelman A. The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16(7):831-842.
  27. Wight T. Cell biology of arterial proteoglycans. *Arteriosclerosis.* 1989;9(1):1-20
  28. Baron L, Romero-Vecchione E, Lopez F. Disminución de la afinidad entre Proteoglicanos Arteriales y LDL aislada de fumadores y no fumadores por Administración de Vitaminas E Y C. *Invest Clín.* 2004;45(2):159-174.
  29. Hurt E, Bondjers G, Camejo G. Interaction of LDL with human arterial proteoglycans stimulates its uptake by human monocyte-derived macrophages. *J Lip Res.* 1990;31(3):443-454.
  30. Linden T, Bondjers G, Camejo G, Bergstrand R, Wilhelmsen L, Wiklund O. Affinity of LDL to a human arterial proteoglycans among male survivors of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest.* 1989;19(1):38-44.
  31. Reape TJ, Groot PH. Chemokines and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1999;147(2):213-225.
  32. Simionescu, M, Simionescu, N. Proatherosclerotic events: pathobiochemical changes occurring in the arterial wall before monocyte migration. *FASEB J.* 1993;7(14):1359-1366
  33. Ball K, Turner R. Smoking and the heart: The basis for action. *Lancet.* 1974;2:822-826.
  34. Harats D, Ben Naim M, Dabach Y, Hollander G, Stein O, Stein Y. Cigarette smoking renders LDL susceptible to peroxidative modification and enhanced metabolism by macrophages. *Atherosclerosis.* 1989;79:245-252.
  35. Koprash S, Pietzsch J, Kuhlisch E, Fuecker K, Temelkova-Kurktschiev T, Henefeld M, Kühne H, Julius U, Graessler J. In vivo evidence for increased oxidation of circulating LDL in impaired glucose tolerance. *Diabetes* 2002;51(10):3102-3106.
  36. Wang X, Greilberger J, Ratschek M, Jurgens G. Oxidative modifications of LDL increase its binding to extracellular matrix from human aortic intima: influence of lesion development, lipoprotein lipase and calcium. *J Pathol.* 2001;195(2):244-250.



---

## DETECCIÓN DE ADN DE *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* EN LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO PROVENIENTE DE PACIENTES DIAGNOSTICADOS CON ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Alejandra Pérez<sup>1</sup>, Luis Torres<sup>1</sup>, Francisco Hernández<sup>1</sup>, Luis Gonzalez<sup>2</sup>,  
Wilhelm Izaguirre<sup>2</sup>, Pablo Ordaz<sup>3</sup>, Ciro Gaona<sup>4</sup>.

Aprobado para publicación marzo 2012. Publicado abril 2012

### RESUMEN:

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un desorden neurodegenerativo y la isoforma 4 de Apolipoproteína E (ApoE) es mundialmente aceptada como un factor de riesgo para el desarrollo de Alzheimer esporádico. La EA se ha asociado con infecciones por *Chlamydomphila pneumoniae* (ChP) debido a que inhibe la respuesta inmune del huésped generando infecciones crónicas. Objetivo: Detectar ADN de ChP en líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con diagnóstico clínico de Alzheimer provenientes del Distrito Metropolitano de Caracas. Metodología: se analizaron (7) muestras de LCR de pacientes con diagnóstico clínico de EA y el grupo control estuvo constituido por (13) muestras de LCR de pacientes con Otras Enfermedades Neurológicas (OND) no Demencia. A los cuales se les determinó la Isoforma de ApoE, se amplificaron los genes para OmcA y 16S ribosomal de ChP. Resultados: la frecuencia de ApoE isoforma 4 en los pacientes con EA fue (0,57) en contraste con el grupo control donde la frecuencia fue de (0,31). En todas las muestras analizadas se obtuvo una ausencia de la banda correspondiente a *Chlamydomphila pneumoniae*. Conclusión: la mayor probabilidad es que la bacteria no se encontrara en el LCR de los pacientes. Pero existe la posibilidad de que el ADN de ChP no estuviese en suficiente cantidad como para ser detectado por las técnicas empleadas. Además, debemos considerar que el protocolo de extracción es un punto crítico. Finalmente, los pacientes con diagnóstico clínico de EA y en particular del género femenino tienen mayor frecuencia de tener una copia de ApoE isoforma 4 en su genotipo.

**Palabras Claves:** Enfermedad de Alzheimer, Apolipoproteína E y *Chlamydomphila pneumoniae*.

### DNA DETECTION OF *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* IN CEREBROSPINAL FLUID OF PATIENTS DIAGNOSED WITH ALZHEIMER DISEASE

#### SUMMARY

Alzheimer's Disease (AD) is a neurodegenerative disorder and the isoform 4 of apolipoprotein E (ApoE) is world accepted as a risk factor for developing sporadic Alzheimer. The AD has been associated with infections by *Chlamydomphila pneumoniae* (ChP) because it inhibits the host immune response causing chronic infections. Objective: to detect ChP DNA in cerebrospinal fluid (CSF) of patients with clinical diagnosis of Alzheimer's from the Metropolitan District of Caracas. Methodology: We Analyzed (7) CSF samples from patients with clinical diagnosis of AD and control groups consisted of (13) CSF samples from patients with other neurological diseases (OND) no dementia. To which the determined the isoform of ApoE genes were amplified for OmcA and 16s ribosomal of ChP. Results: the frequency of ApoE isoform 4 in AD patients was (0.57) in contrast to the control group where the frequency was (0.31). All samples were obtained an absence of the band corresponding to *Chlamydomphila pneumoniae*. Conclusion: the greater likelihood is that the bacteria is not found in the CSF of patients. But there is the possibility that DNA was not ChP insufficient quantity to be detected by the techniques employed. Furthermore, we most consider the extraction protocol is a critical point. Finally, patients with clinical diagnosis of AD and in particular the female are more often have a copy of ApoE isoform 4 in its genotype.

**Keywords:** Alzheimer's disease, apolipoprotein E, *Chlamydomphila pneumoniae*.

---

**Solicitar copia a:** ivetth\_86@hotmail.com

<sup>1</sup>Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela.

<sup>2</sup>Departamento de Biología Molecular del Laboratorio AVILAB.

<sup>3</sup>Laboratorio Médico de Referencia.

<sup>4</sup>Grupo de Investigación Internacional de Demencia 10/66

## Introducción

Conocer que el principal factor de riesgo para padecer la EA, es tener una edad mayor a 65 años (1), y que además suele ser la causa más frecuente de demencia en ancianos, ya que representa del 50 al 75% de los casos (2), no es un futuro alentador; diferenciar entre EA y otros tipos de demencias que cursen con signos y síntomas iguales significa un reto, para el personal del área de la salud. Venezuela no escapa de esta realidad siete de cada cien ancianos tienen demencia senil y/o demencia tipo Alzheimer, según lo que describe el Grupo de Investigación Internacional de Demencia 10/66 (2009)(1).

El deterioro cognitivo leve, es el estado clínico de transición entre el envejecimiento normal y el envejecimiento por EA (3). Por su parte la EA es una enfermedad neurodegenerativa. El marcador genético que actualmente se realiza en el país es la determinación de la isoforma de ApoE cuya principal fuente a nivel de Sistema Nervioso Central es el astrocito (2). Su función primordial radica en la homeostasis lipídica, mantenimiento de la neuroplasticidad, modulación de la actividad del péptido beta-amiloide y acción antiinflamatoria. La isoforma 4 de ApoE ha sido mundialmente aceptada como un factor de riesgo para el desarrollo de Alzheimer esporádico (4). La EA es una enfermedad multifactorial. En el caso de los procesos infecciosos, ChP ha sido uno de los principales microorganismos investigados. Esto se puede deber a la capacidad de inhibir la respuesta inmune del huésped generando infecciones crónicas (5,6,7).

## Metodología

La población consultada consistía en pacientes con deterioro cognitivo. Los pacientes seleccionados cumplían con los siguientes requisitos:

- Diagnóstico de imagen compatible con EA.
- Estudios de laboratorio donde se demuestre que la demencia no tiene causa conocida.
- Evaluación del deterioro cognitivo.
- Ser mayores de 50 años.

El grupo de control estuvo integrado por 13 muestras de LCR de aspecto límpido, incoloros y un conteo celular menor a 5 células por mm<sup>3</sup> proveniente de pacientes de diferentes edades con otras enfermedades neurológicas no demencia.

En la tabla 1 se muestra la procedencia de las muestras empleadas.

Las 7 muestras de LCR con diagnóstico clínico EA y las 13 muestras de LCR con Otras Enfermedades Neurológicas

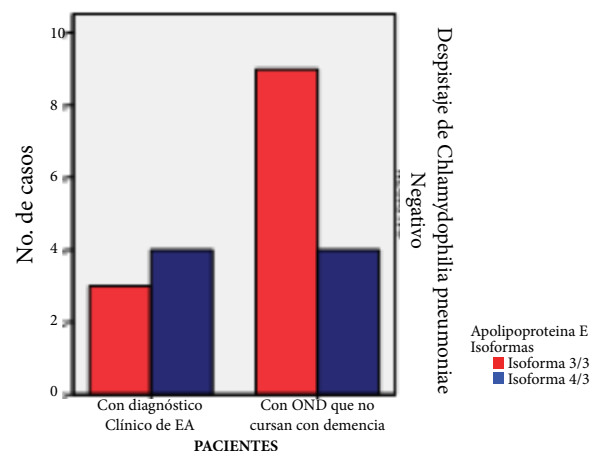
no Demencia, fueron transportadas a 4°C y refrigeradas a -70°C hasta su procesamiento. Las muestras fueron sometidas a un pre-tratamiento en el cual se centrifugo 16.000 g., por 15min. El sedimento que se obtuvo se trato con 20ul de Proteinasa K, este se mezcla en el vortex brevemente y después se coloca en el baño de maría seco a una temperatura de 60°C por 30min. Seguidamente se realizó el protocolo de Extracción de AxyPrep Body Fluid Viral DNA/RNA Miniprep Kit. Se uso la técnica de PCR para la detección de ADN de *Chlamydomphila pneumoniae* (Gen de Amplificación OmcA y 16Sribosomal) y para la genotipificación de ApoE (técnica INNO LiPA ApoE de Innogenetics).

**Tabla 1. Procedencia de las muestras empleadas**

Facilitador	Cantidad de muestra
Dr. Pablo Ordaz <b>Director del Laboratorio Clínico de Referencia</b>	5
Dr. Ciro Gaona <b>Fundación Alzheimer de Venezuela</b>	
Dr. Francisco Hernández <b>Departamento de Neurología del Hospital Clínico Universitario</b>	2

## Resultados

De la población consultada el grupo de pacientes con diagnóstico clínico de EA tienen una frecuencia 0,57 de presentar una copia del alelo 4 del gen de ApoE representado un 57% mientras que el grupo control constituido por pacientes con OND no demencia tienen una frecuencia 0,31 de presentar una copia del alelo 4 del gen de ApoE representando un 31%.



**Figura 1. Distribución de muestras con Despijaje de ChP negativo por isoforma de ApoE en las muestras del grupo de pacientes en estudio y el grupo control.**

De la población consultada los pacientes con diagnóstico clínico de EA, del género femenino presentaron una frecuencia 0,75 mientras que los del género masculino presentaron una frecuencia 0,25.

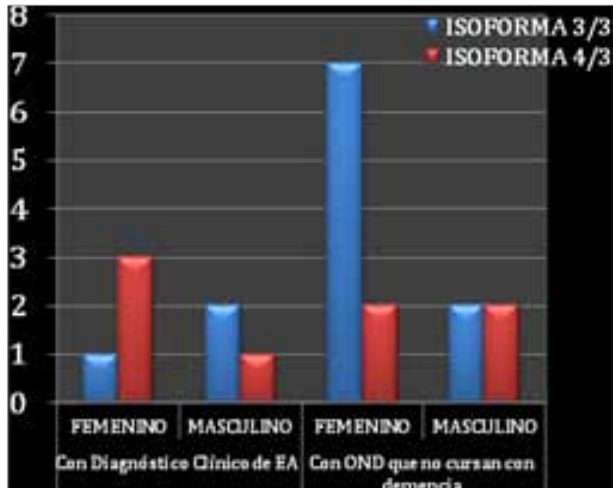


Figura 2. Distribución de muestras con Despistaje de ChP negativo por isoforma de ApoE y género en las muestras del grupo de pacientes en estudio y el grupo control.

El despistaje para *Chlamydomypha pneumoniae* en las 13 muestras analizadas del grupo control resulto negativo.

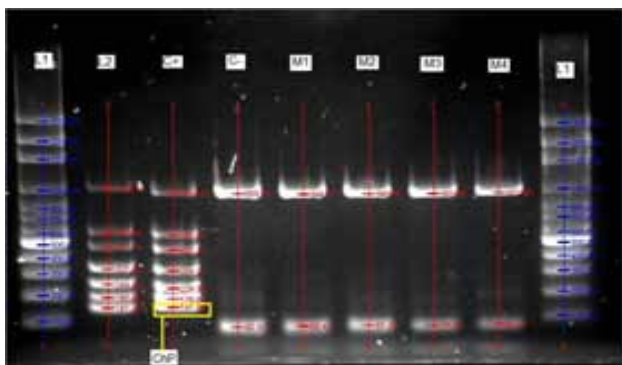


Figura 3. Electroferograma en gel de Agarosa al 2% de los productos de amplificación de los pacientes con OND no demencia usando la técnica Pneumobacter de Seeplex.

El despistaje para *Chlamydomypha pneumoniae* de las 7 muestras con diagnóstico clínico de EA resulto negativo por ambas metodologías.

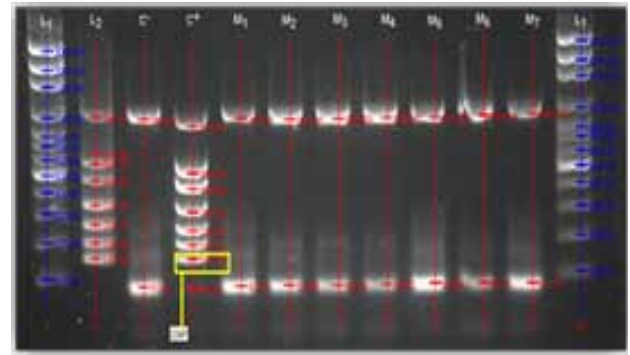


Figura 4. Electroferograma en gel de Agarosa al 2% de los productos de amplificación de los pacientes con Diagnóstico Clínico de EA usando la técnica Pneumobacter de Seeplex.

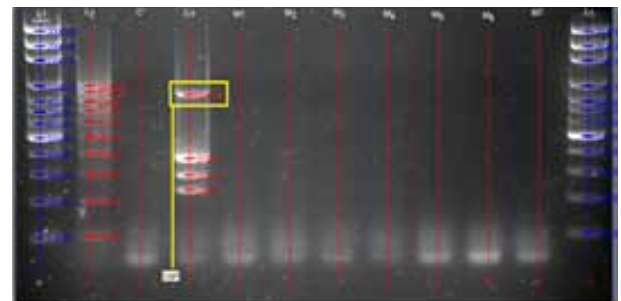


Figura 5. Electroferograma en gel de Agarosa al 2% de los productos de amplificación de los pacientes con Diagnóstico Clínico de EA usando la técnica Maxin Biotech

Revelado por Hibridación Reversa de la Genotipificación de ApoE de los pacientes con Diagnóstico clínico de EA



### Discusión

En el presente estudio corrobora que la mayor frecuencia de ApoE alelo 4 lo presenta los pacientes con diagnóstico clínico de EA y en particular los del género femenino, similar al reportado por otros investigadores [2,5,8,9,10,11].

No se detectó ADN de ChP en los pacientes con OND no demencia y los pacientes con diagnóstico clínico de EA con las técnicas empleadas.

Las causas por la cual no se observó la banda de ChP se debe a que la misma no estaba en el LCR de los pacientes con EA o por la cantidad insuficiente de ADN de ChP causando que no pudieran ser detectada por las técnicas empleadas. Ha sido reportado que las altas concentraciones de Interferón-  $\gamma$  y los agentes antimicrobianos causan que ChP no este en cantidad suficiente en los pacientes con EA. Porque ambas inhiben la fase replicativa (12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Finalmente debemos considerar que el proceso de extracción es un punto crítico, en este sentido el protocolo fue efectivo para extraer el ADN de ApoE mas pudiera ser que no fuese el adecuado para extraer el ADN de ChP por las características de la misma.

## Referencias

1. Siete de cada cien ancianos sufre demencia o Alzheimer. El Universal. En prensa Agosto 2009.
2. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer report 2009. Available from: URL: <http://www.alz.co.uk/research/worldreport>. Consultado: el 23 de enero de 2010.
3. Wize B, Asklin J, Cortes C, Tvinneheim A. Role of CD8 T cells in the host response to Chlamydia. *Microbes and Infection* 2008; 10: 1420-10.
4. Caspar S, Puissant B, Nazzari D, Lefevre J, Thomsen M, Salvayre R, et al. Chlamydia pneumoniae. Induces Interleukin-10 production that down-regulates Major Histocompatibility Complex Class I Expression. *The Journal of Infectious Disease* 2000; 182:394-7.
5. Balin B, Little C, Hammond C, Appelt D, Whittum- Hudson J, Gérard H, et al. Chlamydia pneumoniae and the Etiology of late - Onset Alzheimer Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 2008; 13: 371-9.
6. Mandell G, Gordon R, Bennett J, Mandell DE. Enfermedades infecciosas: principios y práctica. Edición 6. España: Elsevier; 2006.p. 3662
7. Prescott L, Harley J, y Klein D. Microbiología. 5ta edición. España: McGraw -Hill; 2004. p515-3.
8. Orduña C, García E, Rodríguez C, Benito J. Últimos avances en el diagnóstico molecular y por imagen de la enfermedad de Alzheimer. *El Círculo de Innovación en Biotecnología y la Asociación Afal Contigo* 2009: 1-84.
9. Gérard H, Wildt K, Whittum- Hudson J, Lai Z, Ager J, Hudson A. The load of Chlamydia pneumoniae in the Alzheimer's brain varies with APOE genotype. *Microbial Pathogenesis* 2005; 39: 19-26.
10. Ewers M, Zhong Z, Bürge K, Wallin A, Blennow K, Teipel S, et al. Increased CSF-BACE I activity is associated with ApoE allele 4 genotype in subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Brain* 2008; 131: 1252-6.
11. Molero A, Pino G, Maestre G. Modulation by age and gender of risk for Alzheimer's disease and vascular dementia associated with the apolipoprotein E 4 allele in Latin Americans: findings from the Maracaibo Aging Study. *Neuroscience Letters* 2001; 307:5-3.
12. Morrison, R. New insights into a persistent problem -chlamydial infections. *J. Clin. Invest.* 2003; 111(11): 1647- 3.
13. Balin B, Appelt D. Role of infection in Alzheimer's disease. *JAOA* 2001; 101 (12): S1-S5.
14. Rivero N. Infección por Chlamydia pneumoniae y crisis asmática. Estudio serológico en el área 10 de la comunidad de Madrid [Tesis Doctoral]. Madrid, España: Universidad Complutense de Madrid; 2001.
15. Villegas E, Solórzano A, Camacho A, Gutiérrez J. Chlamydia pneumoniae: from proteomics to arteriosclerosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26:629-7.
16. Kutlin A, Roblin P, Hammerschlag M. Effect of Prolonged Treatment with Azithromycin, Clarithromycin, or Levofloxacin on Chlamydia pneumoniae in a Continuous-Infection Model. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(2):409-3.
17. Friedman H, Yamamoto Y, Bendinelli M. Chlamydia pneumoniae: infection and disease. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers 2004: 286.
18. Rasmussen S, Eckmann L, Quayle A, Shen L, Zhang Y, Anderson D, et al. Secretion of Proinflammatory Cytokines by Epithelial Cells in Response to Chlamydia Infection Suggests a Central Role for Epithelial Cells in Chlamydial Pathogenesis. *The Journal of Clinical Investigation* 1997; 99 (1): 77-10.
19. Polkinghorne A, Hogan RJ, Vaughan L, Summersgill JT, Timms P. Differential expression of chlamydial signal transduction genes in normal and interferon gamma-induced persistent Chlamydia pneumoniae infections. *Microbes Infect.* 2006; 8: 61-11.
20. Caldwell HD. Polymorphisms in Chlamydia trachomatis tryptophan synthase genes differentiate between genital and ocular isolates. *J. Clin. Invest.* 2003; 111:1757-12.
21. Von Bernhardt R. La neuroinflamación en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. *Boletín de la Escuela de Medicina U.C., Pontificia Universidad Católica de Chile* 2007; 32 (1).
22. Manzano S, González JL, Marcos A, Matías J. Genética y enfermedad de Alzheimer. *Neurología* 2009; 24(2):83-6.
23. Hu J, Van Eldik LJ. Glial-derived proteins activate cultured astrocytes and enhance beta amyloid-induced glial activation. *Brain Res.* 1999; 842: 46-8.



## VALOR PRONÓSTICO DE LOS NIVELES SÉRICOS DEL CA-125 EN PACIENTES CON LINFOMA NO HODGKIN.

Priva Zabner de Oziel<sup>1</sup>, Rosa Somoza<sup>1</sup>, Valentina Wallis<sup>1</sup>, Claudia Galicia<sup>1</sup>, Jean Desenne<sup>1</sup>,  
Ana Monzón de Orozco<sup>1</sup>, Marina Gonzalez<sup>1</sup>, Gretta Acquatella<sup>1</sup>, Marisela Morales<sup>1</sup>, Yasmin Ordoñez<sup>1</sup>,  
María Alejandra Torres<sup>1</sup>, Antonieta Natale<sup>1</sup>, Aixa Müller<sup>1</sup>.

Aprobado para publicación marzo 2012. Publicado abril 2012

### RESUMEN:

**Introducción:** El Ca 125 ha sido considerado un nuevo marcador pronóstico en linfoma No Hodgkin (LNH). El objetivo del trabajo consistió en evaluar la significancia pronóstica de los niveles del CA 125 en pacientes con LNH, asociación y correlación con factores clínicos patológicos, biológicos y sobrevida. **Métodos:** Se procesaron muestras de suero de 67 pacientes con diagnóstico de LNH, de primera consulta, pretratamiento, VIH negativo y sin presentar otras enfermedades, edad promedio 55 años (rango 18-79 años), LNH agresivos 49(73%) y LNH indolentes 18(27%), IPI 60(90%) de bajo riesgo y 7 (10%) de alto riesgo, tiempo promedio de seguimiento 30 meses (rango 3-48 meses). CA 125, B2M e IL-6 se determinaron por inmunoensayos enzimáticos y Proteína C Reactiva, Albúmina sérica, LDH, AST, ALT y Fosfatasa alcalina por métodos de aglutinación directa, colorimétrico y cinético, respectivamente. **Resultados:** 16(24%) de los pacientes expresaron niveles elevados de CA 125(>35u/ml) ( $p < 0,001$ ). Asociación significativa ( $p \leq 0,05$ ) de CA 125 (>35u/ml) con estadio clínico (EC) III-IV, enfermedad voluminosa (EV)>10cm, síntomas B (SB), enfermedad abdominal (EAb) y niveles elevados de LDH y B2M. Correlación significativa y directa con EC, EV, SB, LDH, B2M y AST ( $p \leq 0,05$ ) y correlación inversa con albúmina sérica ( $p=0,02$ ). El análisis univariado mostró una significativa disminución de la sobrevida global en los pacientes con LNH agresivos y niveles elevados de CA 125(>35u/ml) ( $p=0,03$ ), LDH ( $p=0,048$ ) y B2M ( $p=0,02$ ). Según el análisis multivariado, CA 125 perdió su significancia, LDH ( $p=0,04$ ) y B2M ( $p=0,003$ ) mantuvieron su valor pronóstico independiente. **Conclusiones:** Los resultados del presente trabajo sugieren la utilidad pronóstica de los niveles séricos del CA 125, siendo recomendable su inclusión en la evaluación clínica inicial de los pacientes con LNH.

**Palabras claves:** CA 125, Linfoma No Hodgkin, factor pronóstico.

### PROGNOSTIC VALUE OF SERUM CA 125 LEVELS IN NON-HODGKIN'S LYMPHOMA PATIENTS.

#### SUMMARY

**Introduction:** CA 125 has been considered a new prognostic marker in Non-Hodgkin lymphoma (NHL). The objective of this study was to determine the prognostic significance of CA 125 levels in NHL patients, the association and correlation with clinical pathological and biological factors and survival. **Methods:** We processed 67 serum samples from newly diagnosed NHL patients, previously untreated, HIV-negative and free from other diseases, mean age 55 years (range 18-79 years), aggressive NHL 49 (73%) and indolent NHL 18 (27%), IPI: 60 (90%) of low risk and 7 (10%) high risk, the average time of follow up was 30 months (range 3-48 months). CA 125, B2M and IL-6 were determined by enzyme immunoassay methods. C-reactive protein, serum albumin, LDH, AST, ALT and Alkaline phosphatase were determined by direct agglutination, colorimetric and kinetic methods, respectively. **Results:** Elevated levels of CA 125(> 35 u/ml) were expressed in 16 (24%) of the patients ( $p < 0.001$ ). CA125 levels(> 35 u/ml) were significantly ( $p \leq 0.05$ ) associated with the following factors: Clinical stage (CS) III-IV, bulky disease(BD)>10 cm, B symptoms(BS),abdominal disease(ABD) and elevated levels of LDH and B2M. There was a significant and direct correlation ( $p \leq 0.05$ ) with CS, BD, BS, LDH, B2M and AST and inversely with serum albumin ( $p=0,02$ ). Univariate analysis showed a significant decreased of overall survival in patients with aggressive NHL with elevated levels of CA 125 ( $p < 0.048$ ), LDH ( $p=0.048$ ) and B2M ( $p=0, 02$ ). In multivariate analysis Ca125 lost its prognostic significance, LDH ( $p=0.04$ ) and B2M ( $p=0.003$ ) remained their independent prognostic value. **Conclusion:** The results of this study suggest the prognostic value of serum levels of CA 125, being recommended for inclusion in the initial clinical evaluation of patients with NHL.

**Keywords:** CA125, Non-Hodgkin lymphoma, prognostic factor

**Solicitar copia a:** Priva Zabner de Oziel. [privaoziel@hotmail.com](mailto:privaoziel@hotmail.com)

<sup>1</sup>Instituto de Oncología y Hematología (IOH). Ministerio del Poder Popular para la Salud, Universidad Central de Venezuela

## Introducción

El antígeno de cáncer CA 125 es una glicoproteína tipo mucina de 220 kD, originalmente definida por un anticuerpo monoclonal murino OC 125, desarrollado contra los determinantes antigénicos expresados por una línea celular de carcinoma de ovario seroso llamada OVCA 433 (1). El CA 125 es expresado en tejidos normales derivados del epitelio celómico, tales como el peritoneo, pleura, pericardio, trompas de Falopio y endometrio (2). Este marcador es comúnmente utilizado para el seguimiento del cáncer epitelial de ovario (2-4), aun cuando también se detectan niveles séricos elevados en otras neoplasias (páncreas, pulmón, estómago, colon, endometrio, mama, carcinoma hepatocelular y mesotelioma), así como en patologías benignas tales como cirrosis hepática, tuberculosis, peritonitis, embarazo y cirugía abdominal (5-9), adicionalmente ha sido considerado un marcador biológico en los linfomas no Hodgkin (LNH) (10).

Los LNH comprenden un variado espectro de desórdenes linfoproliferativos con diferentes comportamientos clínicos y características biológicas (11-14). Recientemente se han reportado datos sobre los niveles séricos elevados del CA 125 en pacientes con LNH y su utilidad como marcador tumoral pronóstico al momento del diagnóstico, para detectar enfermedad avanzada, así como para el monitoreo de la respuesta al tratamiento (10,15,16,18-24).

El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar prospectivamente los niveles séricos del CA 125 en pacientes con LNH y profundizar su correlación y asociación con los factores clínicos patológicos y biológicos, así como su relación con la sobrevida, para determinar su utilidad pronóstica.

## Métodos

**Pacientes:** Se evaluaron 67 pacientes con diagnóstico de LNH confirmados clínica e histopatológicamente, los cuales acudieron a la consulta de Linfoma del Instituto de Oncología y Hematología (IOH), U.C.V.-M.P.P.S., durante el periodo 1999 al 2004, siendo el tiempo promedio de seguimiento de la enfermedad de 30 meses (rango 3-48 meses). Se incluyeron pacientes que no recibieron tratamiento previo de la enfermedad, con serología negativa para VIH, excluyéndose los pacientes con LNH con enfermedades asociadas tipo diabetes, insuficiencia renal u otras. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del IOH.

Los pacientes se clasificaron histopatológicamente según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (25). Para la estadificación clínica se aplicó el sistema de clasificación de ANN ARBOR(11): Estadios I-II (enfermedad localizada) y estadios III-IV (enfermedad avanzada). El estado funcional de los pacientes se determinó aplicando la escala de Karnofsky (26). De acuerdo al Índice Pronóstico Internacional (IPI) (27) se clasificaron los grupos de riesgo: Bajo riesgo (bajo riesgo e intermedio bajo) y Alto riesgo (riesgo intermedio alto y alto riesgo). En la práctica clínica con fines pronósticos los LNH se subdividieron en las categorías de linfomas indolentes y agresivos (13).

**Evolución clínica:** Los pacientes se trataron con esquemas de primera línea establecidos internacionalmente para los Linfomas No Hodgkin (11).

Para la evaluación clínica se aplicaron los siguientes criterios:

**Remisión completa (RC):** se define como la desaparición de todas las manifestaciones clínicas y signos de la enfermedad, con normalización de las alteraciones radiológicas y de los datos bioquímicos que fueran anormales antes de iniciar la quimioterapia. Una vez finalizado el tratamiento, la respuesta se mantendrá, al menos tres meses. En caso de infiltración de la médula ósea, la desaparición de la enfermedad morfológica/histológica, deberá ir unida a normalización de las cifras hematológicas periféricas (<12 g/dl de Hb, >100.000 plaquetas/mm<sup>3</sup> y >1.500 granulocitos/mm<sup>3</sup>).

**Remisión Parcial (RP>50):** Se define como la reducción del 50% o más de la enfermedad medible durante al menos un mes. Debe haber ausencias de citopenias periféricas.

**Progresión:** Aumento en la frecuencia o en la severidad de los síntomas, o aparición de nuevas áreas afectadas, o progresión de más de un 25% en las localizaciones tumorales iniciales.

**Sobrevida Global (SG):** Es el tiempo transcurrido desde que se hace el diagnóstico y se inicia o no un tratamiento hasta la muerte ocasionada por la enfermedad inicial que se está evaluando o hasta la fecha del último control.

**Sobrevida Libre de Enfermedad (SLE):** Es el tiempo transcurrido entre la fecha RC y la nueva aparición de síntomas y signos de enfermedad (recaída).

## Muestras

Se realizó una sola toma de muestra por paciente, antes de la administración del tratamiento. Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa, recolectadas en tubos estériles sin anticoagulante, para la obtención del suero se centrifugaron a 2500 rpm por 10 min. Las muestras se procesaron inmediatamente para la determinación de la albúmina sérica y las enzimas: Lactato deshidrogenasa (LDH), Aspartato amino transferasa (AST), Alanino amino transferasa (ALT) y Fosfatasa Alcalina (FALC). Las muestras correspondientes para la determinación de CA125, B2 Microglobulina (B2M), Proteína C Reactiva (PCR) e Interleuquina-6 (IL-6), se almacenaron a -70° C hasta su procesamiento.

## Determinación de los marcadores biológicos

- AST, ALT Y FALC: Se analizaron por métodos cinéticos UV, utilizando un autoanalizador de química sanguínea (Hitachi modelo 704 Roche): ALT (Valor referencia:  $\leq 38$  u/l, Roche catálogo N° 851121); AST (Valor de referencia:  $\leq 41$  u/l, Roche catálogo N° 851132); FALC (Valor de referencia:  $\leq 290$  u/l, Roche catálogo N° 816388).
- LDH: Valor de referencia: 80-285 u/l, Invelab catálogo N° 89289.

Según lo establecido por el IPI en pacientes con LNH (27), la actividad de la LDH se consideró anormal para valores  $>570$  U/L, correspondiendo al 100% del valor superior del rango de referencia.

- PCR: se aplicó el método de aglutinación directa semicuantitativo (Wiener Lab. catálogo N° 006531). Valor de referencia:  $\leq 6$  mg/l.
- B2M: Se determinó mediante el método de inmunoensayo enzimático sobre micropartículas (MEIA), sistema IMX. (Abbot, cat N° 69-2197/R11). Valor de referencia:  $\leq 3,4$  mg/dl.
- Antígeno de Cáncer 125: El CA 125 se determinó mediante la tecnología de inmunoensayo enzimático sobre micropartículas (MEIA) empleando el sistema IMX (Abbott Laboratorios Catálogo N° 69-4123/R3). Valor referencia:  $\leq 35$  u/ml.
- IL-6: Se empleó un ensayo inmunoenzimático (ELISA), modalidad sándwich. (Quantikine Catálogo N° D6050 RD Systems). Se aplicó el valor referencia: 0 - 1.99 pg/ml, basados en estudios anteriores (17).

## Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando los siguientes programas:

- Statgraphics Statistical Graphics Systems Version 6. Graphpad Software V2 05<sup>a</sup>.

Basic Statistics, Inc.

Pruebas estadísticas no paramétricas: Test U-Mann-Whitney para determinar las diferencias en el comportamiento del marcador entre los grupos, expresados por la mediana (M) y el coeficiente de correlación de Spearman rank-sum (r) para determinar la correlación entre los factores pronósticos.

Para las curvas de sobrevida se aplicó el método de Kaplan-Meier, la prueba de Log-rank para el análisis univariado y la regresión de Cox para el análisis multivariado.

La significancia estadística se estableció como  $p=0,05$

## Resultados

Características clínico-patológicas y biológicas de los pacientes con LNH: En la Tabla I se muestran las características clínico-patológicas de los pacientes evaluados. De acuerdo a los factores de mal pronóstico, 33% de los pacientes presentaron edades mayores de 60 años, 58% de sexo femenino, 60% con estadio clínico III-IV (enfermedad avanzada), 9% estado funcional alterado, 66% con afectación extraganglionar  $>1$  región, 43% presentaron síntomas B, 66% enfermedad voluminosa mayor de 10 cm., y el 21% y 59% presentaron compromiso de médula ósea y enfermedad abdominal respectivamente. Según la histología del tumor, el 60% correspondió al subtipo histológico Linfoma Difuso de Células Grandes tipo B, 12% al subtipo Linfoma Folicular, el 9% al Linfoma linfocítico pequeño y 19% otros subtipos. En relación a las categorías pronósticas, el 73% correspondieron a LNH agresivos y el 27% a LNH indolentes. Con respecto al IPI, el 90% de los pacientes se categorizaron de bajo riesgo y el 10% de alto riesgo.

En relación a los marcadores biológicos, en la población estudiada 9(13%), 17(25%), 8(12%), 8(8%), 11(16%), 30(45%) y 38(66%) de los pacientes presentaron respectivamente valores elevados de LDH, B2M, AST, ALT, FALC, PCR e IL-6 y 16(24%) de los pacientes cursaron con concentraciones disminuidos de albúmina sérica.

Niveles séricos del CA 125 en pacientes con LNH:



Tabla I. Características clínico-patológicas de los pacientes con LNH

Características		CA 125	
		N=67	%(100)
Edad (mediana 55, rango 18-79 años)	≤ 60 años	46	(67)
	> 60 años	21	(33)
Sexo	Masculino	39	(42)
	Femenino	28	(58)
Clasificación Histológica	Difuso de células grandes	40	(60)
	Células del manto	1	(1)
	Parecido Burkitt	1	(1)
	Células grandes anaplásicas T	3	(5)
	Células T periféricas	2	(3)
	Inmunoblástico	2	(12)
	Folicular	8	(9)
	Linfocítico pequeño	6	(3)
	Tipo maltoma	2	(3)
	Micosis fungoide	2	(3)
Categorías pronósticas	Agresivos	49	(73)
	Indolentes	18	(27)
Estadio Clínico	I-II	27	(40)
	III-IV	40	(60)
Estado funcional Karnofsky	< 70%	6	(9)
	≥ 70%	61	(91)
Enfermedad extraganglionar	≤ 1	23	(34)
	> 1	44	(66)
Síntomas B	No	38	(57)
	Si	29	(43)
Enfermedad voluminosa	≤10 cm	23	(34)
	> 10 cm	44	(66)
Compromiso de médula ósea	No	53	(79)
	Si	14	(21)
Enfermedad abdominal	No	27	(41)
	SI	40	(59)
IPI	Bajo riesgo	60	(90)
	Alto riesgo	7	(10)

IPI: Índice Pronóstico Internacional      Bajo riesgo (bajo e intermedio bajo)  
 Alto riesgo (intermedio alto y muy alto riesgo)

Los niveles séricos del CA 125, al momento del diagnóstico, correspondieron a un valor de mediana de 9,8 u/ml (rango 0-822 u/ml). De los 67 pacientes estudiados 16(24%) presentaron niveles de CA 125(> 35 u/ml) significativamente aumentados respecto al grupo de 51(73%) de pacientes con valores del marcador inferiores a 35u/ml,  $p < 0,001$ . (Tabla II)

Asociación de los niveles séricos de CA 125 con las características clínico-patológicas y biológicas de los pacientes con LNH: En la tabla III, observamos que los pacientes con estadio clínico III-IV cursaron con valores del CA 125 significativamente superiores comparados con el grupo de pacientes con estadio clínico I-II,  $p=0,02$ . El grupo de pacientes con enfermedad

**Tabla II. Niveles séricos del CA 125 en pacientes con LNH.**

CA 125	≤ 35 u/ml	> 35 u/ml	*p
Nº pacientes= 67	51(76)	16(24)	
Mediana	7.3	94.4	<0,001
Rango	0-32.2	35-822	

p significativa = 0,05 \* p: Prueba U-Mann-Whitney.  
CA 125: Antígeno de cáncer 125

voluminosa >10cm presentó niveles del CA 125 significativamente superiores (p=0,05) respecto al grupo con enfermedad voluminosa <10cm. Los niveles del CA 125 fueron significativamente elevados en el grupo de pacientes que presentaron síntomas B (fiebre, sudoración nocturna y pérdida de peso) respecto al grupo con ausencia de los síntomas, p< 0,0001.

Los valores elevados del CA 125 se asociaron

significativamente (p<0,0001) con el grupo de pacientes que presentó enfermedad abdominal en comparación con el grupo de pacientes que no presentó dicha condición. No se obtuvieron diferencias significativas relacionadas con la edad, las categorías pronósticas, el estado funcional, la enfermedad extraganglionar, el IPI y compromiso de médula ósea.

En cuanto a los marcadores biológicos (Tabla IV), observamos niveles elevados del Ca 125 significativamente asociados con el grupo de pacientes que expresaron actividad anormal de LDH (>570UI/L) respecto al grupo de pacientes con valores de LDH < 570 UI/L, p=0,04. Valores elevados de CA 125 se asociaron significativamente con el grupo de pacientes que expresaron valores alterados de B2M en comparación con el grupo de pacientes con valores normales de B2M, p=0,01. No se obtuvieron resultados significativos asociados a los valores de AST, ALT, FALC, albúmina sérica, IL-6 y PCR.

**Tabla III. Asociación de los niveles séricos del CA 125 con las características clínico-patológicas en pacientes con LNH.**

Características		N	CA 125 (M) u /ml	Rango	*p
Edad	≤60 años	46	10,8	0-822	0,84
	>60 años	21	8,5	2,8-175	
Categorías Pronósticas	Agresivos	49	13,8	0-783	0,08
	Indolentes	18	6,9	1,2-822	
Estadio Clínico	I-II	27	6,3	0-783	0,02
	III-IV	40	15,8	1,2-822	
Estado Funcional Karnofsky	< 70 %	6	6,7	0-101	0,40
	≥ 70%	61	9,8	1,8-822	
Enfermedad Extraganglionar	≤1	23	17,2	2,8-783	0,27
	>1	44	8,4	0 - 822	
Enfermedad voluminosa	≤10 cm	23	6,8	1,21- 696	0,05
	>10 cm	44	14,0	0 - 822	
IPI	Bajo riesgo	60	9,6	0-822	0,40
	Alto riesgo	7	23,0	4,2-32,2	
Síntomas B	No	38	7,3	0-255	<0.0001
	Si	29	27,3	1,2-822	
Enfermedad Abdominal	No	27	6,8	0-783	<0.0001
	Si	40	17,9	1,2-822	
Compromiso de médula ósea	No	53	10	0-783	0,20
	Si	14	13	3,0-822	

IPI: Índice pronóstico Internacional

M: mediana

CA 125: Antígeno de cáncer 125

\*p significativa = 0,05. Prueba U-Mann-Whitney

**Tabla IV. Asociación de los niveles séricos del CA 125 con los marcadores biológicos en pacientes con LNH**

VARIABLES	N	CA 125 (M) u/ml	Rango	p*	
LDH*	≤570 UI/L	58	9,7	1,73-822	0,04
	>570UI/L	9	35,1	0-167	
B2M	≤3.4 mg/l	50	8,4	0-783	0,01
	>3.4 mg/l	17	18,3	5,9-822	
AST	≤38 U/L	59	5,5	0-822	0,28
	>38 U/L	85,5	15,7	6,2-696	
ALT	≤41 U/L	59	9,8	0-822	0,83
	>41 U/L	8	9,4	3,9-696	
FALC	≤290 U/L	55	9,6	0-822	0,76
	>290 U/L	12	11,6	1,21-696	
Albúmina sérica	≤ 3,4 g/dl	12	20,5	5,9-106	0,80
	> 3,4 g/dl	54	9,0	0-822	
IL- 6	≤ 1,99 pg/ml	23	6,8	1,73-167	0,15
	> 1,99 pg/ml	38	9,7	0-783	
	VD	6			
PCR	≤6 mg/l	37	9,5	1,7-783	0,32
	>6 mg/l	30	13,6	0-822	

CA 125: Antígeno de Cáncer 125 PCR: Proteína C Reactiva FALC: Fosfatasa alcalina  
 B2M: Beta 2 microglobulina ALT: Alanina amino transferasa AST: Aspartato amino transferasa  
 IL-6: Interleukina-6 LDH\*: Lactato deshidrogenasa (100% del límite superior del valor de referencia)  
 VD: valor desconocido p significativa = 0,05 p\*: Prueba U-Mann-Whitney

### Correlación de los niveles séricos de CA 125 con las características clínico- patológicas y marcadores biológicos en los pacientes con LNH:

Los niveles del CA 125 correlacionaron de forma directa y significativa con el estadio clínico de los pacientes ( $r=0,29$   $p=0,02$ ), enfermedad voluminosa ( $r=0,25$   $p=0,05$ ), síntomas B ( $r=0,33$   $p=0,01$ ) y enfermedad abdominal ( $r=0,30$   $p=0,02$ ). (Tabla V).

El análisis de correlación de los niveles del CA 125 con los marcadores biológicos (Tabla N° VI), mostró una correlación significativa y directa con los valores de LDH ( $r=0,24$   $p=0,04$ ), B2M ( $r= 0,32$   $p=0,05$ ) y AST ( $r=0,27$   $p= 0,045$ ). También observamos una correlación inversa estadísticamente significativa con las concentraciones de albúmina sérica ( $r = - 0,30$   $p=0,02$ ).

**Evolución clínica:** Se estudiaron 67 pacientes durante un tiempo promedio de seguimiento de 30 meses (rango 3-48 meses). De acuerdo a la evolución clínica, 27(40%) de los pacientes entraron en remisión completa, 29(44%) respondieron parcialmente, siendo la respuesta global de 56(84%). Del grupo de pacientes estudiados,

11(16%) progresaron y 24(36 %) fallecieron.

**Análisis de la sobrevida de los pacientes con LNH:** En la tabla VII observamos el análisis univariado de la sobrevida global de acuerdo a los marcadores biológicos considerados en el estudio, para el tiempo de seguimiento de 4 años.

**Tabla V. Correlación de los niveles séricos del CA 125 con las características clínico-patológicas en pacientes con LNH.**

Características	r	*p
Edad	0,15	0,27
Estadio clínico	0,29	0,02
Estado funcional Karnofsky	0,08	0,54
Enfermedad extraganglionar	0,18	0,17
Enfermedad voluminosa	0,25	0,05
IPI	0,16	0,24
Síntomas B	0,33	0,01
Enfermedad abdominal	0,30	0,02
Compromiso de médula ósea	0,13	0,27

Los pacientes con LNH agresivos y valores elevados de CA 125 (>35 u/ml) presentaron una probabilidad de sobrevida global significativamente inferior (50%) comparada con la probabilidad de sobrevida global (71%) del grupo de pacientes con valores normales del CA 125,  $p = 0,030$  (Figura N° 1).

La probabilidad de la sobrevida global de los pacientes con LNH resultó significativamente disminuida en el grupo de pacientes con niveles elevados de LDH ( $p=0,048$ ) (Figura N° 2) y B2M ( $p=0,02$ ) (Figura N° 3).

En el análisis multivariado de la sobrevida global (Tabla VIII), observamos que el CA 125 perdió su significancia como marcador pronóstico independiente, los marcadores biológicos que demostraron ser estadísticamente independientes de la sobrevida correspondieron a LDH ( $p=0,04$ ) y B2M ( $p=0,003$ ).

El tamaño de la muestra y la distribución de los datos (vivos y fallecidos), fueron limitantes para el análisis de la sobrevida en el grupo de los linfomas indolentes, igualmente para las curvas de la sobrevida libre de enfermedad en ambos grupos pronósticos (datos no mostrados).

**Tabla VI. Correlación de los niveles del CA 125 con los marcadores biológicos en pacientes con LNH.**

VARIABLES	r	p*
LDH	0,24	0,04
B2M	0,32	0,02
AST	0,27	0,045
ALT	0,01	0,91
FALC	0,11	0,4
Albúmina sérica	-0,30	0,02
IL-6	0,22	0,1
PCR	0,1	0,41

PCR: Proteína C Reactiva FALC: Fosfatasa alcalina  
B2M: Beta 2 microglobulina AST: Aspartato amino transferasa  
LDH: Lactato deshidrogenasa ALT: Alanina amino transferasa  
NS: no significativo CA 125: Antígeno de cáncer 125  
 $p$  significativa = 0,05  $p^*$ : Correlación Spearman

**Tabla VII. Análisis univariado de la Sobrevida Global según los marcadores biológicos en los pacientes con LNH.**

VARIABLES	CONDICIÓN	LNH Agresivos n=49 SG p*
CA125	≤35U/ml vs >35U/ml	0,03
LDH	≤570 U/L vs >570U/L	0,048
B2M	≤3.4mg/l vs >3.4mg/l	0,02
AST	≤38U/L vs >38U/L	ns
ALT	≤40U/L vs >40U/L	ns
FALC	≤290U/L vs >290U/L	ns
PCR	≤6 mg/l vs >6mg/l	ns
IL-6	≤1.99pg/ml vs >1.99pg/ml	ns
Albúmina sérica	≤3.4g/dl vs >3.4g/dl	ns

SG: Sobrevida global

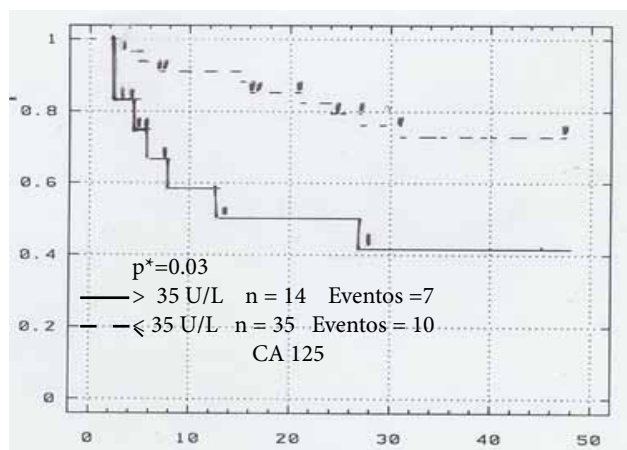
CA 125: Antígeno de cáncer 125 LDH: Lactato deshidrogenasa

B2M: Beta 2 microglobulina AST: Aspartato amino transferasa

ALT: Aspartato amino transferasa FALC: Fosfatasa alcalina

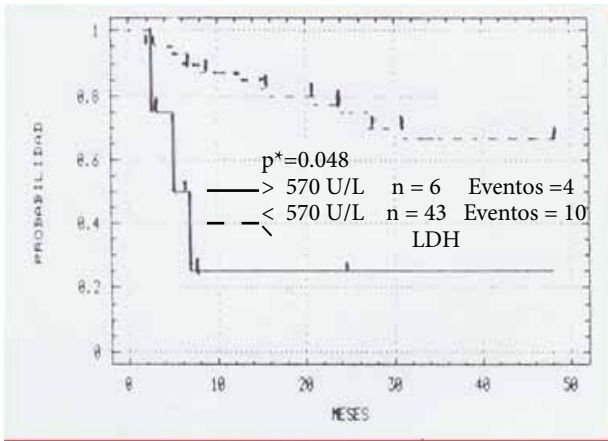
PCR: Proteína C Reactiva IL-6: Interleuquina-6 ns: No

significativo  $p^*$ : Prueba Log Rank



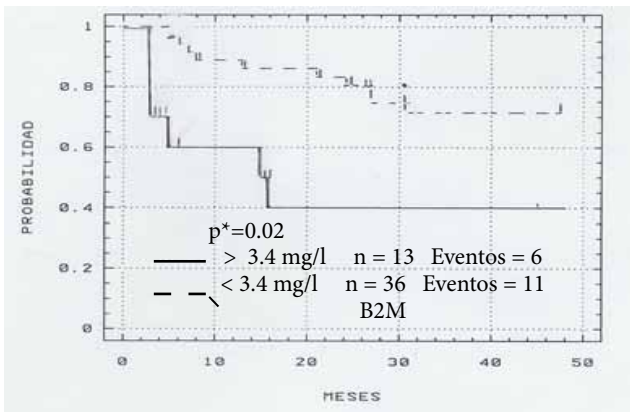
CA 125: Antígeno de cáncer 125 N: Número pacientes, Eventos: N° fallecidos Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses  $p$  significativa = 0,05  $p^*$ : Análisis univariado Prueba Log Rank

**Figura No. 1 Curva de la Sobrevida global de acuerdo a los niveles del CA 125 en pacientes con LNH agresivos. Método Kaplan Meier.**



\*p significativa = 0.05 p\*: Análisis univariado Prueba Log Rank LDH: Lactato deshidrogenasa. N: Número pacientes Eventos: FallecidosLNH: Linfoma No Hodgkin Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses

**Figura 2. Curva de la sobrevida global de acuerdo a los niveles de LDH en pacientes con LNH agresivos. Método Kaplan Meier**



p significativa= 0.05 p\*: Análisis univariado Prueba Log Rank B2M: Beta 2 Microglobulina Tiempo de seguimiento: 3 a 48 meses N: Número pacientes Eventos: FallecidosLNH: Linfoma No Hodgkin

**Figura 3. Curva de la Sobrevida global de acuerdo a los niveles de B2M en pacientes con LNH agresivos. Método Kaplan Meier**

**Discusión**

El CA 125 ha sido considerado un nuevo factor pronóstico en pacientes con LNH en base a sus niveles séricos al momento del diagnóstico (15,16,18-23).

En el presente estudio evaluamos la significancia

**Tabla VIII. Análisis Multivariado de la Sobrevida Global según los marcadores biológicos en los pacientes con LNH.**

Variables	Condición	SG p*
CA125	≤35U/ml vs >35U/ml	ns
LDH	≤570 U/L vs >570U/L	0,04
B2M	≤3.4mg/l vs >3.4mg/l	0,003

CA 125: Antígeno de cáncer 125 LDH: Lactato deshidrogenasa  
B2M: Beta 2 microglobulina p significativa = 0,05  
p\* : Regresión de Cox SG: Sobrevida Global

de los niveles séricos del CA 125 en un grupo de 67 pacientes con LNH, al momento del diagnóstico y antes de iniciar el tratamiento, observando valores elevados en el 24% de los pacientes, siendo este valor inferior al rango de prevalencia (34%-72%) reportado por otros autores (15,16,18,19,22,23,29,30). Esta variabilidad podría reflejar la gran heterogeneidad clínica y biológica que caracteriza a esta patología, así como probablemente la influencia de la respuesta inflamatoria del organismo afectado frente al tumor.

El CA 125 no es producido por las células linfomatosas sino por las células mesoteliales (19,30-33) y estudios inmunohistoquímicos recientes sugieren que no pareciera ser secretado directamente por las células del linfoma (29). Las citoquinas inflamatorias (IL-1, TNFα, IL-6, IL-8) producidas por los macrófagos y células del linfoma podrían estimular la secreción del Ca 125(10, 18, 20,24). La presencia de derrames (peritoneo, pleura, pericardio) podría aumentar la producción del Ca 125 por las células mesoteliales (15, 19,34). Debido a que la producción del CA 125 se origina por células diferentes de la célula linfomatosas, sus niveles séricos serían más un reflejo de la respuesta inflamatoria del paciente frente a la enfermedad que del propio tumor y dado que la producción de las citoquinas es proporcional a la masa tumoral, no es sorprendente la asociación del CA 125 con varias características de la enfermedad avanzada (17,24).

La mayoría de los pacientes presentaron enfermedad avanzada, afectación de más de un sitio extranodal, enfermedad voluminosa > 10 cm y compromiso abdominal, características que reflejan la extensión del tumor y su potencial invasivo, factores asociados con una disminución de la respuesta al tratamiento y sobrevida (27,35).



De acuerdo a nuestro análisis, los niveles elevados del CA 125 se asociaron y correlacionaron significativamente con las características clínico patológicas expresión de enfermedad avanzada, enfermedad voluminosa >10cm, síntomas B y enfermedad abdominal, coincidiendo con los reportes de otros estudios (16,19,20,21,33,35). Adicionalmente a estas características otros autores han reportado la asociación con enfermedad extranodal, compromiso de medula ósea, estado funcional e IPI score (16, 18, 20,27-30). Aun cuando las célula linfomatosas no secretan CA 125, algunos investigadores han reportado niveles elevados del marcador en aproximadamente 40% de los pacientes con LNH, particularmente en presencia de derrame peritoneal, pleural o pericárdico (34).

No observamos asociación entre el CA 125 y las categorías pronósticas por lo que no se relaciona con la histología del tumor, tampoco con la edad y sexo, información que coincide con otros reportes en la literatura (21,22).

Evaluamos el comportamiento del CA 125 respecto a los marcadores biológicos y observamos niveles elevados del CA 125 asociados significativamente con valores incrementados de la LDH y B2M, coincidiendo con los reportes de otros autores (15, 18, 19, 20,29). Adicionalmente obtuvimos una correlación significativa y directa con los valores de LDH y B2M coincidiendo con los reportes de otros investigadores (20, 23,33), pero no así con los trabajos de Ozguroglu y col. (16) y Benboubker y col. (18).

Es interesante señalar que la información biológica que provee el CA 125 es diferente a la que aportan los marcadores LDH y B2M, los cuales son liberados por las células linfomatosas y por otras células del organismos, reflejando una medida de la carga tumoral y de la actividad proliferativa del tumor, mientras que el CA 125 sería un índice de la respuesta del paciente frente al potencial invasivo del tumor y por ende de su actividad infiltrante.

Observamos una correlación estadísticamente significativa e inversa entre los niveles del CA 125 y la albúmina sérica, ambos factores asociados con la reacción del organismo frente al tumor y la respuesta inmune inflamatoria. La liberación de las citoquinas podría explicar la disminución de los niveles de la albúmina sérica, la presencia de síntomas B, la velocidad de sedimentación globular (VSG) elevada y la anemia en pacientes con LNH agresivos y el TNF y la IL-6 están muy relacionadas con estas manifestaciones. La IL-6

es un inductor de la síntesis de fibrinógeno en el hígado, el mayor determinante de la (VSG) e inhibe la síntesis hepática de la albúmina causando hipoalbuminemia (17,35). No obtuvimos resultados significativos de asociación y correlación entre los niveles del CA 125, IL-6 y PCR, aunque la expresión del CA 125 sea reflejo de la respuesta inflamatoria del organismo frente al tumor (33).

El análisis univariado de la sobrevida global de los pacientes con LNH agresivos de acuerdo a los niveles del CA 125 al momento del diagnóstico, indicó que el grupo de pacientes con niveles aumentados presentó una sobrevida global significativamente disminuida en comparación con la sobrevida global de los pacientes con niveles normales del marcador, para un tiempo de seguimiento entre 3 - 48 meses, sin embargo el CA 125 no reflejó su valor pronostico independiente en el análisis multivariado. Niveles elevados del CA 125 se han asociado con el empeoramiento de la evolución de los pacientes con LNH (18-20,30). Bairey y col. (20) observaron una peor sobrevida global en pacientes con LNH agresivo y niveles aumentados del CA 125, pero en el análisis multivariado este marcador biológico perdió su significancia biológica. Zacharos y col. (19) observaron una sobrevida a 5 años del 65% y 20% en pacientes con LNH agresivos con niveles normales o elevados de CA 125 respectivamente, manteniéndose la significancia estadística de esta diferencia en el análisis multivariado. Benboubker y col. (18) reportaron una mayor sobrevida asociada con LNH de bajo grado y niveles normales de CA 125, pero los resultados del análisis multivariado son desconocidos. Zidan y col. (23) mostraron una disminución de la sobrevida global en pacientes con LNH agresivos con valores anormales de CA 125. Según El Gawad y col (29) los niveles elevados de CA 125 fueron predictivos de una menor sobrevida global.

En nuestro estudio sobre el análisis univariado de la sobrevida global en los pacientes con LNH agresivos respecto a la LDH y B2M, pudimos confirmar lo reportado por otros autores (30,36-38,40) respecto a la asociación de sus niveles elevados con una peor sobrevida global, así como su valor pronóstico independiente en el análisis multivariado.

Algunos autores han propuesto que el valor pronóstico del IPI pudiera mejorarse con la inclusión de niveles elevados del CA 125 y B2M en la categorización de los pacientes con LNH (41).

Es importante tomar en consideración los factores que influyen en la variabilidad de los resultados y en consecuencia la dificultad de comparar los trabajos publicados. Estos factores estarían relacionados con el tamaño de muestra, la heterogeneidad de las poblaciones de los pacientes estudiados y los esquemas de tratamientos, por lo que sería recomendable realizar estudios multicéntricos incluyendo un mayor número de pacientes, recibiendo el mismo tratamiento, homogeneidad histológica y características clínicas, además la estandarización metodológica.

Los resultados del presente trabajo sugieren la utilidad de la determinación de los niveles séricos del CA 125 al momento del diagnóstico, antes de iniciar el tratamiento y también han permitido profundizar sobre el comportamiento biológico del tumor, asociándose con la agresividad de la enfermedad. La determinación del CA 125 pudiera proveer importante información pronóstica al ser incorporado en la evaluación clínica inicial del paciente con LNH.

#### Agradecimientos

Al Profesor Leovigildo García por la asesoría estadística.

A la Fundación Badán por su colaboración en el financiamiento del estudio estadístico.

#### Referencias:

- Bishop P. "What we know about the origin of CA 125? European Journal of Obstetrics Gynecology Reproductive Biology 1993; 49:93-98.
- Brioshi PA, Bishop P, Rapin C, De Roten M, Irion O, Kraver F. Longitudinal study of CEA and CA 125 in ovarian cancer. Gynecol Oncol. 1985; 21:1-6.
- Cruikshank DJ, Terry PB, Fullerton WT. CA 125 response assessment in epithelial ovarian cancer. Int J Cancer 1992; 51: 58-61.
- Sturgeon C. Practice guidelines for tumor marker use in the clinic. Clinical Chemistry 2002; 48(8): 1151-59.
- Akagi M. Clinical significance of serum CA 125 values in patients with cancers of digestive system. Am J Med Sci. 1986; 292:30-34.
- Simsek H, Kadayifci A, Okan E. Importance of serum CA 125 levels in malignant peritoneal mesothelioma. Tumor biol. 1996; 17:1-4.
- Kimura Y, Fujii T, Hamamoto K, Mijagawa N, Kataoka M, Iio A. Serum Ca 125 level is a good prognostic indicator in lung cancer. Br J Cancer. 1990; 62: 676-78.
- Haga Y, Sakamoto K, Egami H, Yoshimura R, Akagi M. Elevation of serum CA 125 values in healthy individuals and pregnant women. Am J Med Sci. 1986; 292:25-29.
- Imai A, Itoh T, Niwa K, Tamaya T. Elevated CA 125 serum levels in patient with tuberculous peritonitis. Arch Gynecol Obstet. 1991; 248:157-59.
- Morra E. The biological markers of Non-Hodgkin's Lymphomas: Their role in diagnosis, prognostic assessment and therapeutic strategy. The International Journal of Biological Markers. 1999; 14 (3): 149-53.
- Feldman AL, Pittaluga S, Jaffe ES, Classification and histopathology of the lymphomas. En Canellos G.P., Lister T.A., Young B., editors. The lymphomas. Saunders, Elsevier. Second Edition 2006 p.2-38.
- Fisher RJ, Mauch PM, Friedberg JW. Non Hodgkin Lymphomas. En Cancer principles and Practice Oncology. Vincent De Vita Jr., Samuel Hullman, Steve A. Rosemberg. 7th Edition. Lippincott: Williams & Wilkins 2005. Capitulo 41-2; p.1957-1997
- Hennessy BT, Hanrahan EO, Daly PA. Non Hodgkin lymphoma: an update. The Lancet Oncology 2004; 5: 341-352.
- Evans LS, Hancock BW. Non Hodgkin Lymphoma. Lancet, 2003; 362:139-46
- Lazzarino M, Orlandi E, Klersy G, et al. Serum CA 125 is of clinical value in the staging and follow up of patients with non-Hodgkin's lymphoma. Cancer 1998; 82: 576-82.
- Özgüroglu M, Turna H, Demir G, et al. Usefulness of the epithelial tumor marker CA-125 in non-Hodgkin's lymphoma. Am J Clin Oncol. 1999; 22 (6) 615-618.
- Zabner-Oziel P, Galicia C, Somoza R, Wallis V, Desenne J, González M, et al. Valor pronóstico de los niveles séricos de la IL-6 en linfoma No Hodgkin. Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas 2006,9(1).11-21.
- Benboubker L, Valat C, Linassier G. A new serologic index for low- grade non-Hodgkin's lymphoma based on initial CA125 and LDH serum levels. Annals of oncology 2000; 11:1485-91.
- Zacharos ID, Efstathiou SP, Petreli E, Georgiou G, Tsioulos DI, Mastorantonakis SE, et al. The prognostic significance of CA125 in patients with non-Hodgkin's lymphoma. Eur J Haematology 2002; 69:221-226.
- Bairey O, Blickstein D, Stark P, Prokocimer M, Nativ HM, Kirgner I, et al.: Serum CA125 as a prognostic factor in Non-Hodgkin's lymphoma. Leukaemia & Lymphoma 2003; 44 (10):1733-38.
- Dilek I, Ayakta H, Demir C. CA-125 levels in patients with non-Hodgkin's lymphoma and other hematologic malignancies. Clin Lab Hem. 2005; 27:51-55.
- Battle M, Ribera JM, Oriol A, Pastor C, Mate JL, Fernández Avilés F, Flores A, et al. Usefulness of tumor markers CA 125 and CA 15-3 at diagnosis and during follow up in non-Hodgkin's lymphoma: study of 240 patients. Leuk & Lymphoma 2005; 46:1471-76.
- Zidan J, Hussein O, Basher W, Zohar Sh. Serum CA 125. A



- tumor marker for monitoring response to treatment and follow up in patients with Non-Hodgkin's lymphoma. *The Oncologist* 2004;9: 417-21.
24. Bonnet C, Beguin Y, Fassotte MF, Seidel L, Luyckx F, Fillet G. Limited usefulness of CA 125 measurement in the management of Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma. *European journal of Haematology* 2007;78:399-40
  25. Harris N., Jaffe ES, et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the haematopoietic and lymphoid tissues: report of the clinical advisory committee meeting. *The Haematology Journal* 2000; 1:53-66.
  26. Karnofsky et al. *Clinical Oncology*. P. Rubin Ed. American Cancer Society. 1983.
  27. Shipp H.A. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphomas. The International Non-Hodgkin's lymphomas prognostic factors project. *N. Engl. J. Med* 1993; 329: 987-994.
  28. Montserrat E. Prognostic factors in aggressive lymphoma. The contribution of novel markers. *Ann Hematol.* 2001; 80: B42 – B44.
  29. Wei G, Yuping Z, Jun W, Bing Y, Qiaohua Z. CA 125 expression in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 2006;47(7):1322-26.
  30. El Gawad IA., Shafik HE. CA 125, a new prognostic marker for aggressive NHL. *Journal of the Egyptian Nat. cancer Inst.* 2009;21(3):209-217.
  31. Vlasveld LT, Ermens AAM, Sonnenberg AA, Pauwels P. Elevated serum Ca 125 concentration due to expression by diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Clin Biochem* 2000;37:545-48
  32. Fehm T, Beck E, Valerius T, Gramatzki M, Jager W. CA 125 elevations in patients with malignant lymphomas. *Tumour Biol* 1998;19:283-289.
  33. Pabst T, Ludwig C. CA 125: A tumor marker in non-Hodgkin's lymphomas *J Clin Oncol* 1995; 13: 1827-28
  34. Wiernik PH. Serum CA 125 and PSA concentration in patients with lymphoma. *Clin Adv Hematol Oncol* 2008; 6(7):527-31.
  35. Nicolaidis C, Dimou S, Pavlidis N. Prognostic factors in aggressive Non-Hodgkin's lymphomas. *Oncologist* 1998; 3: 189-197.
  36. Hagberg H, Killander A, Simonsson B. Serum B2-microglobulin in malignant Lymphoma. *Cancer* 1983; 51:2220-25.
  37. Swan F Jr., Velasquez WS, Tucker S, Rechman JR, Rodriguez MA, McLaughlin P. A new serologic staging system for large cell lymphoma based on initial beta-2 microglobulin and lactate dehydrogenase levels. *J Clin Pathol.* 1989; 7:1518-27.
  38. Johnson PWM, Whelan J, Longhurst S, Stepaniewska K, Matthews J, Amess J, et al. B2 microglobulin: a prognostic factor in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Br J Cancer.* 1993; 67:792-97.
  39. Litam P, Swan F, Cabanillas F, Tucker SL, McLaughlin P, Hagemester FB, Rodriguez MA, Velasquez WS. Prognostic value of serum Beta-2 microglobulin in low grade lymphoma. *Ann Intern Med.* 1991, 114:855-60.
  40. Aviles A, Narvaez BR, Diaz-Maqueo JC, Guzmán R, Talavera A, García EL, et al. Value of serum B2 microglobulin as an indicator of early relapse in diffuse large cell lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 1993;9:377-380.
  41. Gui W, Wang T, Wang J, Wang L, He J, Yang B., et al. *Int j Biol Markers* 2008; 23(4):207-13.





---

## DESARROLLO DE UNA PROPUESTA PARA LA IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE GESTIÓN DE LA CALIDAD EN UN LABORATORIO CLÍNICO EN CARACAS – VENEZUELA

Briones N<sup>1</sup>, Llada I<sup>1</sup>, Bustamante Y<sup>1</sup>.

Aprobado para publicación septiembre 2011. Publicado abril 2012

### RESUMEN:

Los Laboratorios Clínicos requieren Sistemas de Gestión de la Calidad (SGC) para operar de manera óptima y eficiente. Actualmente pocos laboratorios en Venezuela, trabajan con SGC formales, por ello se planteó elaborar un diagnóstico para generar propuestas del SGC actual en un Laboratorio Clínico a través de una Lista de Verificación (LV) elaborada según la Norma COVENIN/ISO:15189-2007. La LV fue completada a través de entrevistas con el coordinador del Laboratorio y la demostración de evidencias de cumplimiento de los requisitos del SGC descritos en la norma seleccionada. Se tabularon los resultados obtenidos y se elaboró un diagrama de causa-efecto y un diagrama de Pareto para jerarquizar y determinar las causas de las no conformidades en el SGC actual. Los resultados obtenidos reflejaron la carencia de un SGC adecuado, ya que se obtuvo que un 77% de los requisitos no están implementados ni documentados, un 11,4% están documentados pero no implementados y solo un 3,4% están implementados y documentados (8,2% de las cláusulas no aplican al laboratorio estudiado). De acuerdo a estos resultados se concluyó que no existe un Sistema de Gestión de la Calidad adecuado en el Laboratorio y para favorecer su progreso se redactaron propuestas acordes al laboratorio para la implementación del mismo en este centro de salud.

**Palabras claves:** Gestión de la Calidad, Lista de Verificación, Documentación.

## DEVELOPMENT OF A PURPOSE FOR THE IMPLEMENTATION OF A QUALITY MANAGEMENT SYSTEM IN A CLINICAL LABORATORY IN CARACAS – VENEZUELA

### SUMMARY

The clinical laboratories require quality management systems (QMS) to operate in an optimal and efficient way. Actually only a few laboratories work with formal QMS, due this fact, we established to elaborate a diagnosis in order to create purposes over the present QMS through a verification list (VL) that was performed in accordance with the COVENIN/ISO:15189-2007 normative. The VL was completed through interviews with the laboratory coordinator and the demonstration of the evidence of fulfillment for the requirements of the QMS described in the standard. The data was tabulated and a cause-effect diagram was elaborated, also a Pareto diagram to give hierarchy to the results obtained and to determine the causes of the non conformities in the actual QMS. The results reflected the lack of an adequate QMS, cause 77% of the requirements are not implemented nor documented, a 11,4% are documented but not implemented, and only a 3,4% are implemented and documented (8,2% of the requirements do not apply for this lab). According to these results we conclude that it does not exist an adequate QMS in this laboratory, and in order to promote its progress we wrote purposes in agreement with the laboratory for the implementation in this health center.

**Key words:** Quality Management, Verification List, Documentation

---

Solicitar copia a: [nathalie.briones@gmail.com](mailto:nathalie.briones@gmail.com)

<sup>1</sup> Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela

## INTRODUCCIÓN

Los laboratorios clínicos (LC) han sido concebidos como entes de ayuda y orientación diagnóstica para los clínicos. En ellos se desarrollan actividades asistenciales, docentes, de investigación entre otros, y dada la trascendencia que tienen los informes y resultados que estos emiten para la atención al paciente, resulta evidente que todos los laboratorios deben disponer de un sistema que asegure la calidad de sus resultados.

Se entiende por aseguramiento de la calidad al conjunto de acciones sistemáticas encaminadas a proporcionar la adecuada confianza en los servicios que suministra el laboratorio para satisfacer las necesidades de atención al paciente<sup>1</sup>. En estos sistemas se han introducido conceptos de gestión de la calidad, tal como los que se reflejan en la norma ISO 9000:2005<sup>2</sup>, así como otras, las cuales son estándares de sistemas de gestión de la calidad que definen como una organización debe manejar, gestionar y sistematizar sus procesos en lo relativo a la calidad.

Los modelos de sistemas de aseguramiento y de gestión de la calidad de laboratorio basados en normas han tomado auge internacionalmente en los últimos años. Sin embargo, en nuestro país aun no se han implementado de manera regular ni son exigidos por ninguna institución o autoridad competente.

Desde febrero del año 2003, los LC alrededor del mundo tienen una norma por implementar en sus operaciones para el mejoramiento continuo de la calidad de los resultados, la norma ISO 15189<sup>3</sup>: "Laboratorios Clínicos: Requisitos particulares para la calidad y la competencia". Esta norma fue oficializada por el Comité Técnico 212 (CT212) de la Organización Internacional para la Normalización (ISO), y posee un conjunto de requerimientos que se dividen en dos categorías, la primera se relaciona con el sistema de gestión, donde se evalúa al sistema de la calidad relacionado con la estructura organizativa y la gestión de calidad del LC, y la segunda con los requisitos técnicos que contemplan los lineamientos a ser cumplidos por el personal, las instalaciones y condiciones ambientales, los equipos de laboratorio, los procedimientos de pre-análisis y procedimientos de análisis, el aseguramiento de la calidad de procedimientos de análisis, el proceso de post-análisis e informe de resultado, actualmente está disponible la versión 2007 de esta norma. Además existen otros documentos bajo los cuales un laboratorio puede diseñar e implementar un

sistema de gestión, tal como las buenas prácticas de laboratorio (BPL)<sup>4</sup> que se implementan en otros países de Latinoamérica y el mundo, sin embargo, no están establecidos como un requisito en Venezuela.

Tanto la ISO 15189 como las BPL y otras, han servido de base para la elaboración de cuestionarios de autoevaluación que permiten realizar un diagnóstico general del sistema de gestión del laboratorio, y así mismo conocer el grado de cumplimiento de la norma o el documento con el fin de desarrollar planes y políticas dirigidas a lograr la conformidad con los requisitos exigidos.

De las normas mencionadas, solo se ha adaptado como norma Venezolana a la ISO 15189. Esta norma fue adoptada en Venezuela como norma COVENIN (COVENIN/ISO 15189:2004) por el instituto de normalización nacional Fondonorma, y en el momento que se disponga, SENCAMER (Servicio Autónomo Nacional de Calibración, Metrología y Reglamentos Técnicos), será el encargado de acreditar laboratorios venezolanos bajo esta norma, entendiendo que un laboratorio clínico que logre acreditarse con COVENIN/ISO 15189:2007 asegura a sus clientes que provee no solo resultados confiables, sino un buen servicio de atención clínica.

Actualmente existe a nivel internacional un interés creciente entre los laboratorios clínicos de obtener la acreditación de sus servicios bajo el enfoque de ISO 15189 debido a que la norma ha ganado aceptación por los cuerpos de acreditación a nivel mundial. Este es un estándar de calidad desarrollado exclusivamente para laboratorios clínicos y tiene su base sobre las normas ISO 17025 e ISO 9001<sup>2</sup>.

En Venezuela, además de esta norma que es de aplicación voluntaria, existen leyes y decretos de obligatorio cumplimiento en el área del Bioanálisis, como por ejemplo la Ley del Ejercicio del Bioanálisis (Gaceta Oficial N° 30160 del 23 de Julio de 1973)<sup>6</sup>; la Gaceta Oficial N° 36595, del Jueves 3 de diciembre de 1998<sup>7</sup>, en donde se establecen los requisitos para obtener el permiso de funcionamiento del laboratorio clínico, incluidas las responsabilidades del Director del Laboratorio y por último, la Gaceta Oficial N° 37144 del 20 de febrero de 2008<sup>8</sup>, en donde se establecen los requisitos para conformar la estructura física del laboratorio clínico. Sin embargo, la supervisión de su cumplimiento por parte de las autoridades competentes no es estricta.

La introducción de sistemas de gestión de la calidad representa una oportunidad importante para los laboratorios clínicos de Venezuela, ya que estos elevarían los estándares de calidad y de desempeño actuales y lograrían la unificación de criterios clínicos en pro de generar calidad e impacto positivo en los usuarios.

El primer paso para la implementación de estos sistemas debe ser establecer un diagnóstico del estado del laboratorio, a fin de determinar en qué grado o a qué nivel se encuentra el sistema de gestión y a partir de allí, establecer una planificación gradual que tenga como objetivo la construcción del sistema de gestión del laboratorio.

En ese sentido, en este trabajo se plantea como primer paso realizar un diagnóstico inicial según la norma COVENIN/ISO 15189:2007 del sistema de gestión de la calidad de un laboratorio clínico. Para ello se empleará un cuestionario de autoevaluación o lista de verificación (LV) (Checklist ISO/FDIS 15189) elaborada siguiendo la estructura de la norma, para definir el grado de conformidad con la norma citada, y así conocer las fortalezas y debilidades del sistema de gestión actual. Una vez completada la LV, con los datos obtenidos a partir de esta, se buscará establecer la base sobre la que se diseñará un plan de acción coherente dirigido a mejorar y fortalecer el sistema actual.

Hasta ahora no existen registros en Venezuela de laboratorios acreditados con la norma ISO 15189:2007, de donde se hace necesario que las instituciones responsables del ejercicio del Bioanálisis, promuevan y exijan la implementación de sistemas de gestión de la calidad basados en normas, y así mismo verifiquen el cumplimiento de estándares mínimos de calidad<sup>9</sup>, los cuales deben ser de obligatorio cumplimiento dada la importancia que tiene el producto o resultado de un laboratorio para las decisiones diagnósticas y terapéuticas de los clínicos que se reflejan directamente en la calidad de vida de los pacientes.

## METODOLOGIA

Para definir el grado de cumplimiento de la norma COVENIN/ISO 15189:2007 en el laboratorio objeto de estudio, se empleó una lista de verificación (LV) (Checklist ISO/FDIS 15189). Este formulario una vez completado, permite obtener una aproximación del grado de

cumplimiento de los requisitos que contempla la COVENIN/ISO 15189:2007. La LV está agrupada por secciones (cláusulas y subcláusulas) en un orden que coincide con el de presentación de la norma y está diseñada de tal forma que junto a cada requisito, se encuentra un espacio vacío previsto para dar respuesta al ítem evaluado. El modo de responder la LV debe definirse a fin de facilitar el análisis de los resultados, en este caso la LV se completó de acuerdo con el modelo de respuestas del cuestionario de autoevaluación del cumplimiento de la norma ISO 17025 de la ENAC (Entidad Nacional de Acreditación – España)<sup>10</sup>. Según ello, el tipo de sistemática utilizada fue:

DI: Sistemática definida Documentalmente e Implantada eficazmente .

DNI: Sistemática definida Documentalmente pero no Implantada eficazmente.

NDA: Sistemática No definida Documentalmente, pero existen Actuaciones que pretenden resolver la cuestión.

NDNA: No se ha definido Sistemática alguna, ni se realizan Actuaciones relativas a la cuestión.

NA: No es de Aplicación en el laboratorio

Se seleccionó este modo de respuestas debido a que permite considerar opciones dentro del grado de cumplimiento, ya que si se utiliza un modo cerrado tal como Si cumple/No cumple, es predecible, dado lo incipiente que es la aplicación de sistemas de la calidad en laboratorios clínicos en Venezuela, que cerca del 100% de las opciones sean respondidas con No cumple cuando pueden haber requisitos con cumplimiento parcial. De esta manera, se permite identificar aquellos aspectos para los cuales existen actuaciones y aquellos para los cuales no existen actuaciones, estableciéndose entonces con mayor claridad cuales son las áreas más críticas del laboratorio que requieran atención inmediata.

Se completó la LV (Checklist ISO/FDIS 15189) a través de entrevistas entre el coordinador del laboratorio y los autores del trabajo, en las cuales se solicitaba al coordinador del laboratorio que demostrara a través de evidencias la conformidad con los requisitos de la norma. Según las evidencias mostradas en cada cláusula, se clasificó el grado de cumplimiento de acuerdo a la sistemática señalada.

<sup>9</sup>El grado de definición y extensión de la sistemática definida puede ser motivo de diferentes interpretaciones.

<sup>10</sup>Se entiende por eficazmente implantada cuando se aplica regularmente y se consigue el objetivo que pretende.

<sup>11</sup>Que sea de aplicación o no puede ser motivo de diferentes interpretaciones

Una vez culminada la aplicación de la LV, se procedió a tabular la frecuencia de las categorías empleadas para calificar el cumplimiento de las cláusulas de la norma y así establecer el grado de conformidad del sistema actual del laboratorio entrevistado con la norma COVENIN/ISO 15189:2007.

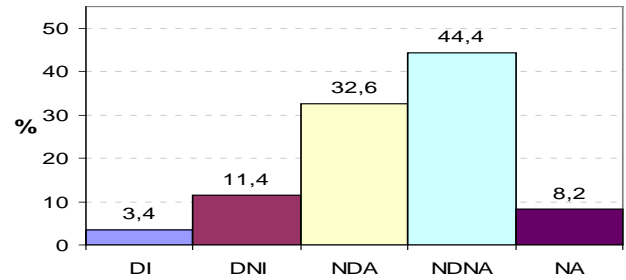
Posteriormente a partir de los datos obtenidos, se construyeron los diagramas de Ishikawa<sup>11</sup> y Pareto<sup>12</sup>, los cuales son herramientas de mejoramiento continuo que ayudan a identificar y determinar las posibles causas y fuentes de no conformidades derivadas de la LV. La construcción de estos diagramas se logra a través de tormenta de ideas, análisis y participación de todos los integrantes del trabajo y del laboratorio, y se realizan con el objeto de proponer coherentemente, sobre la base de su análisis algunas mejoras que estén dirigidas a optimizar el sistema de gestión actual y con lo mismo aumentar el grado de cumplimiento de la norma COVENIN/ISO 15189:2007.

Finalmente, con los resultados obtenidos de los diagramas mencionados se formulan de acuerdo a los problemas identificados, propuestas las cuales al ser aplicadas e implementadas proporcionan

una mejora a la competencia del laboratorio.

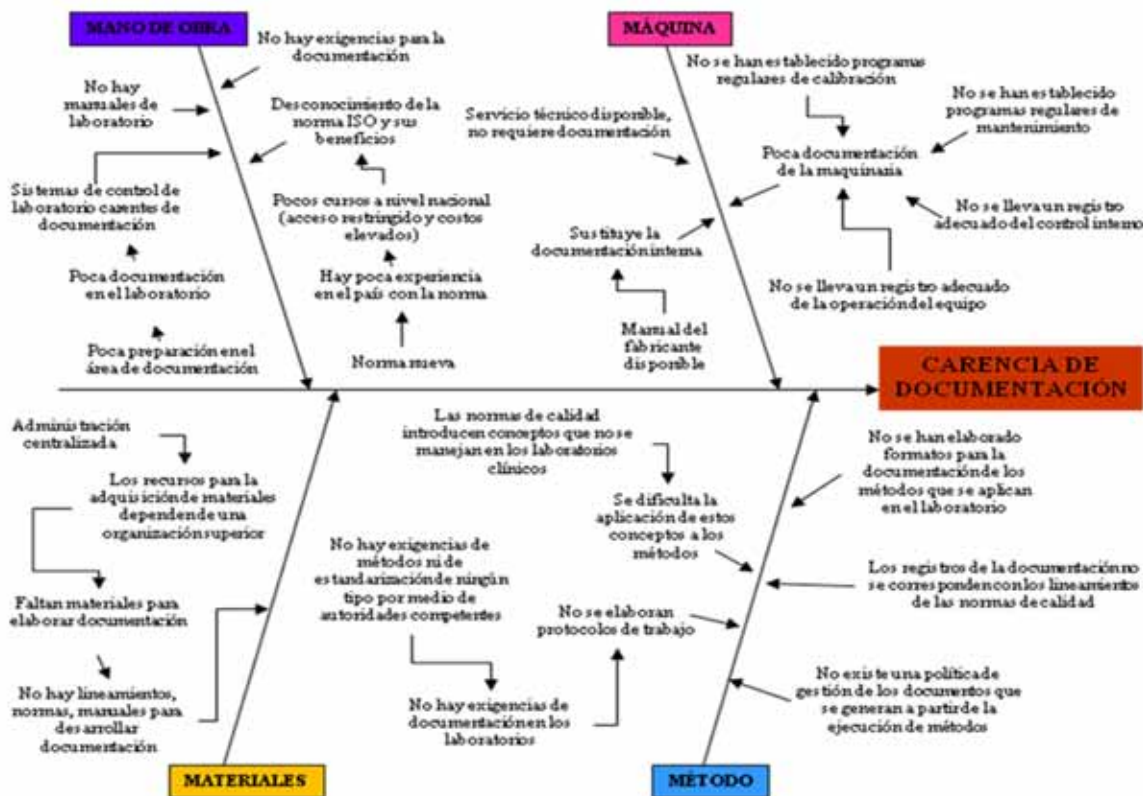
Este proceso de diagnóstico, análisis y propuesta e implementación de mejoras debe ser cíclico a fin de incrementar cada vez más el estándar de calidad y de desempeño de la organización.

**Resultados**



DI: Documentado e Implementado. DNI: Documentado No Implementado. NDA: No Documentado pero con Actuaciones. NDNA: No Documentado No actuaciones. NA: No Aplica

**Gráfico 1.- Diagnóstico del Sistema de Gestión de la Calidad en un Laboratorio Clínico según resultados de la Lista de Verificación. Caracas, Octubre 2009.**



**Figura 1.- Diagrama de Ishikawa (Causa-Efecto). Causas de la Carencia de Documentación Detectada en el Laboratorio Clínico. Caracas, Octubre 2009.**

Los resultados del diagnóstico derivado de la lista de verificación, muestran que existe un predominio en las categorías que se refieren a la no documentación, donde se concentra un 77% de las respuestas (NDA, NDNA). De acuerdo a este resultado y tomando en cuenta que la documentación constituye la base de todo Sistema de Gestión de la Calidad, establecemos como deficiencia principal del Sistema de Gestión de la Calidad (SGC), la falta de documentación, y es a este aspecto al que deben dirigirse las propuestas a fin de que se logre implementar un sistema documental que sustente al SGC en el Laboratorio Clínico estudiado.

Una vez establecida la principal deficiencia del SGC actual, se construyó un Diagrama Causa-Efecto, el cual se elaboró a partir de una tormenta de ideas entre todos los Bioanalistas que trabajan en el LC estudiado. En dicho diagrama se estableció como "efecto" la carencia de documentación y se pidió a los participantes que señalaran las causas de este efecto que se refieren a cada una de las "M" (Mano de Obra, Máquina, Materiales y Método)

con las que tradicionalmente se construyen estos diagramas. Después de la tormenta de ideas se esquematizó el siguiente diagrama en el que se muestran las posibles causas de la carencia de documentación.

Luego de realizado el diagrama causa-efecto, se procede a ponderar la importancia o impacto de cada causa en el efecto estipulado. Para ello, se le pidió a los Bioanalistas que señalaran de acuerdo a su criterio y su trabajo diario, cuales causas contribuían más al efecto establecido, según las condiciones actuales del laboratorio, en cuanto a presencia y disponibilidad de la causa mencionada. La clasificación la debían hacer de acuerdo a la siguiente escala en un rango entre 0 y 3, considerando:

0 = no importante, 1 = poco importante, 2 = importante, 3 = muy importante

Posteriormente se sumaron y promediaron los resultados y se construyó la siguiente tabla:

**Tabla Nº 1.- Importancia de las Causas de la Carencia de Documentación Detectada en el Laboratorio Clínico. Caracas, Octubre 2009.**

		Promedio	
Mano de obra	No Hay Exigencias para la Documentación	2.6	
	Sistemas de Control de Laboratorios Carentes de Documentación	Preparación en el Área de Documentación	3
		Documentación en el Laboratorio	1.8
	Desconocimiento de la Norma ISO y sus Beneficios	Conocimiento de Norma Nueva	2
		Experiencia en el País con la Norma	3
Cursos a Nivel Nacional (acceso restringido y costos elevados)		2.4	
Máquina	No Hay Manuales de Control de la Calidad en los Laboratorios	2.8	
	Servicio Técnico disponible no requiere documentación	0.4	
	Sustituye la Documentación Interna	Manual del Fabricante Disponible	0
		Registro Adecuado de la Operación del Equipo	0.3
	Documentación de la maquinaria	Registro Adecuado del Control Interno	1
Programas Regulares de Mantenimiento Establecidos		1.4	
Materiales	Lineamientos, Normas, Manuales para desarrollar Documentación	Programas Regulares de Calibración Establecidos	1
		Administración Centralizada	0.5
	Elaboración de Protocolos de Trabajo	Los Recursos para la Adquisición de Materiales dependen de una Organización Superior	0
		Falta de Materiales para Elaborar Documentación	0
		Exigencias de Métodos y de Estandarización por medio de Autoridades Competentes	3
Exigencias de Documentación en los Laboratorios	2.7		
Método	Se Dificulta la Aplicación de Conceptos a Métodos	Las Normas de Calidad introducen Conceptos que no se Manejan en los Laboratorios Clínicos	2
	Elaboración de Formatos para la Documentación de los Métodos que se Aplican en el Laboratorio		5
	Existencia de una Política de Gestión de los Documentos que se Generan a partir de la Ejecución de Métodos		2.7
	Los registros de la Documentación corresponden con los Lineamientos de las Normas de Calidad		2.7

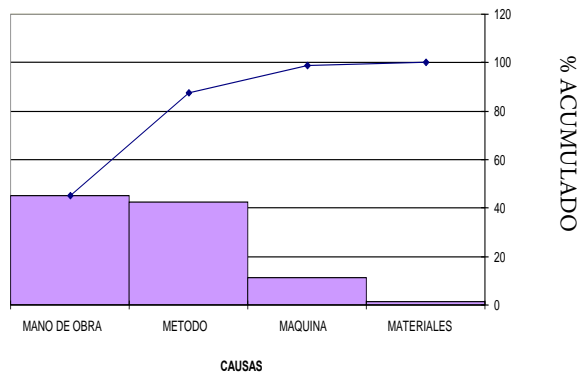
De la tabla anterior se obtuvo la siguiente tabulación para elaborar el diagrama de Pareto:

**Tabla N° 2.- Sumatoria y % Acumulado de las Causas de la Carencia de Documentación Detectada en el Laboratorio Clínico. Caracas, Octubre 2009.**

CAUSA	$\Sigma$	%	% ACUMULADO
MANO DE OBRA	17.6	45,3	45,3
METODO	16.4	42,3	87,6
MAQUINA	4.3	11,1	98,7
MATERIALES	0.5	1,3	100

Con los resultados obtenidos en la tabla 2, se elaboró el diagrama de Pareto, en el cual se priorizan las causas, permitiendo visualizar el aspecto que requiere mayor atención para desarrollar propuestas para la implementación de un Sistema de Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico estudiado.

**Gráfico 2.- Diagrama de Pareto de las Causas de la Carencia de Documentación Detectada en el Laboratorio Clínico. Caracas, Octubre 2009.**



Entre la Mano de Obra (45.3%) y el Método (42.3%), se encuentra el 87.6% de las causas de la deficiencia documental; de acuerdo a estos hallazgos, debe dirigirse el desarrollo de propuestas hacia estos aspectos para la implementación de un Sistema de Gestión de la Calidad en el Laboratorio Clínico objeto de estudio.

**Discusión**

Lamentablemente los Laboratorios Clínicos de Venezuela se han caracterizado por la utilización insuficiente y desorganizada de los Sistemas de

Gestión de la Calidad, situación que se origina básicamente debido a la falta de políticas de salud dirigidas a promover el trabajo de calidad y a establecer lineamientos de calidad en los centros de salud, sumado a la falta de supervisión por parte de entes competentes del cumplimiento de estos estándares de calidad básicos en cualquier laboratorio clínico.

La Norma COVENIN/ISO 15189:20073, así como cualquier estándar de calidad para los laboratorios clínicos, pretenden armonizar los criterios y lineamientos a seguir para lograr la uniformidad en la implementación del Sistema de Gestión de Calidad (SGC).

En este trabajo, se detectó que la principal causa de no conformidad es la no definición de una sistemática documental, lo que contrasta con la base de la norma que es la documentación de todas las acciones y propósitos del LC, vale citar que según ISO 15189:2007, se define como documento a toda información o instrucción, incluyendo el Manual de la Calidad, definiciones de políticas de calidad, libros, procedimientos, especificaciones, curvas y tablas de calibración, gráficas, memorándums, procedimientos de exámenes, etc.; mientras que según ISO 9000:20052 la documentación contribuye a:

- Lograr la conformidad con los requisitos del cliente y la mejora de la calidad;
- Proveer la formación apropiada;
- La repetibilidad y la trazabilidad;
- Proporcionar evidencias objetivas, y
- Evaluar la eficiencia y la educación continua del sistema de gestión de calidad.

La elaboración de la documentación no debería ser un fin en sí mismo, sino que debería ser una actividad que aporte valor.

En relación a los hallazgos del diagrama causa – efecto donde se considera la contribución de distintas categorías al efecto observado podemos analizar lo siguiente:

**Método:** No se cuenta con un sistema formal de registro de documentos, ni protocolos de trabajo adaptados a la norma que faciliten la elaboración de manuales de procedimientos, siendo esto atribuible a la innovación de conceptos por parte de COVENIN/ISO 15189:2007 relacionados con el SGC. Según los lineamientos de la Norma deben elaborarse una serie de manuales, procedimientos, instrucciones, registros, entre otros, que describan



el funcionamiento del laboratorio en su totalidad. Sin embargo, según lo considerado en este laboratorio, esto no se observa, ello se debe a la falta de exigencia, a la falta de programas de calidad, y la falta de una política de gestión de los documentos que se generan a partir de la ejecución de métodos.

**Mano de obra:** el desconocimiento de la norma COVENIN/ISO 15189:2007 y de sus beneficios es atribuible a que la norma es relativamente nueva, lo cual incide sobre la disponibilidad de cursos de capacitación, y a su vez ambos influyen en la preparación y experiencia del personal en la realización de los documentos. Por otra parte también es importante la iniciativa, tiempo y motivación del personal, en los que existe el deseo de mejora del Sistema de Gestión de la Calidad, mas no el compromiso de la directiva lo cual impide el desarrollo de un SGC adecuado. Actualmente observamos acciones basadas en los manuales del equipo y en las recomendaciones descritas por los trabajadores del centro, lo que desplaza la documentación de sus acciones.

**Máquina:** en este aspecto observamos que no existen políticas dentro del laboratorio para llevar un sistema documental tal como se establece en los SGC, ello debido a que los manuales del fabricante sustituyen a la documentación interna, lo cual es una no conformidad ya que en el manual están las características del equipo mas no los procedimientos bajo los cuales funciona el laboratorio. Por otra parte no se encuentran documentados los programas de calibración ni de mantenimiento de los equipos, ni se lleva un registro adecuado de la operación ni del control interno, los cuales serían la evidencia del cumplimiento de los requisitos relacionados.

**Materiales:** la administración y provisión de recursos está centralizada lo que afecta en algunas ocasiones la disponibilidad de los mismos, así como la consideración de aprobación de los recursos para contratar servicios de asesorías que orienten en la elaboración de los documentos.

Según el Diagrama de Pareto (Gráfico 2) se priorizaron las causas de las no conformidades mostradas en el Diagrama de Ishikawa (Figura 1) observándose que los principales aspectos por resolver son el método y la mano de obra, es decir, hacia estos aspectos debe estar dirigido el Plan de Mejora de la Calidad. En relación a lo anteriormente expuesto y según lo establecido en la Norma ISO 15189:2007 se propusieron las siguientes acciones para la implementación de un

SGC que establezca una sistemática documental aplicable al LC.

A corto plazo (dentro de un lapso de tiempo no mayor a 1 año) se propuso:

- Realizar programas de calibraciones y control interno de todos los equipos del LC que se editen en un libro control, para obtener un reporte continuo de la correcta operatividad del LC que refleje un control interno continuo y eficaz, para verificar que la calidad alcanzada sea la especificada.
- Estimular al personal a participar en cursos de presentación de la normas COVENIN/ISO:15189:2007, así como en cursos de documentación para hacer de su conocimiento el alcance, objetivos, contenido y beneficios de las mismas.
- Destacar la importancia de destinar recursos económicos para el adiestramiento del personal del Laboratorio en el área de calidad, así como para la contratación de asesoría en al área.

Elaborar manuales de procedimiento que contemplen las etapas del proceso analítico (desde la fase pre-analítica hasta el informe de resultados).

A mediano plazo (dentro de un lapso de tiempo no mayor a 2 años) se propuso:

- La elaboración de un Manual de la Calidad accesible a todo el personal elaborado según la norma COVENIN/ISO:15189:2007, donde se describa el sistema de gestión de la calidad y la estructura de la documentación usada en él. Incluir o hacer referencia a los documentos que lo soportan, incluso los técnicos. Debe describir la estructura de la documentación del sistema de la calidad y deben estar definidos los roles incluyendo responsabilidades con el cumplimiento de esta norma internacional.
- Instruir a todo el personal en el uso y aplicación del mismo, y de todos los documentos a los que se hace referencia en él y de los requisitos para su implementación. El Manual de la Calidad debe ser actualizado, bajo la autoridad y responsabilidad de una persona designada como responsable de la calidad por la dirección del laboratorio. (ver cláusula 4.2.3 de la Norma).
- Elaborar un sistema de registro y control de todos los documentos contenidos en el Manual de la Calidad del Laboratorio.

A largo plazo (dentro de un lapso de tiempo no mayor a 5 años), se propuso:

- Participar y documentar la participación en programas de evaluación externa de la calidad.
- Elaborar programas de revisión continua del SGC para fortalecer el plan de mejora y plantearse acciones correctivas y preventivas, las cuales deberán ser implementadas oportunamente.

Con este trabajo se logró diagnosticar el Sistema de Gestión de la Calidad actual del Laboratorio Clínico, lo que permitió obtener un estimado de la situación real del mismo referente a la calidad. De igual manera se logró jerarquizar resultados de este diagnóstico lo que permitió establecer las principales causas de las no conformidades detectadas para la implementación de un SGC en el LC y en base a estas se logró proponer acciones y actividades para iniciar la implementación del mismo con la finalidad de obtener en el tiempo mejoras en su operatividad y en la calidad del servicio que ofrece a sus usuarios.

## Referencias

1. Fernández C, Mazziotta D. Gestión de la calidad en el laboratorio clínico. 1ª ed. Editorial médica panamericana. Madrid 2005.
2. Norma Internacional. ISO 9000. Sistemas de gestión de la calidad. Fundamentos y vocabulario. (2005).
3. Norma Venezolana. COVENIN/ISO 15189. Laboratorios Clínicos – Requisitos particulares para la calidad y la competencia. (2007).
4. Royal College of General Practitioners. Good Medical Practice for General Practitioners. [monografía en internet]. Disponible en: [http://www.rcgp.org.uk/PDF/PDS\\_Good\\_Medical\\_Practice\\_for\\_GPs\\_July\\_2008.pdf](http://www.rcgp.org.uk/PDF/PDS_Good_Medical_Practice_for_GPs_July_2008.pdf) [consulta marzo 2008]
5. Norma Internacional. ISO 17025. Requisitos Generales para la Competencia de Laboratorios de Calibración y Ensayo (2005).
6. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela (N° 30160). Ley del Ejercicio del Bioanálisis. (23 de julio de 1973).
7. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela (N° 36595). Normas y procedimientos para la ejecución del reglamento sobre clínicas de hospitalización, hospitales, casa de salud, sanatorios, enfermerías o similares. (3 de diciembre de 1998).
8. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela (N° 37144). Requisitos arquitectónicos para instituciones de salud médico asistenciales públicos y privados que oferten servicios de Bioanálisis. (20 de febrero de 2001).
9. Documento marco sobre calidad en los laboratorios clínicos. Asociación Española de Biopatología Médica (aebm). Federación de laboratorios clínicos. España (2003).
10. Entidad Nacional de Acreditación. Cuestionario de Autoevaluación de Cumplimiento de la Norma UNE-EN ISO/IEC 17025:2000 para Laboratorios. (2001).
11. Ishikawa Diagrama Causa - Efecto. [monografía en internet]. Disponible en: <http://www.gestiopolis.com/recursos4/docs/ger/diagrama.htm> [Consulta febrero 2008].
12. Diagrama de Pareto. [monografía en internet]. Disponible en: <http://www.gestiopolis.com/recursos/documentos/fulldocs/eco/diagramapareto.htm> [Consulta febrero 2008].
13. Sáez Ramírez, Silvia. Gómez, Luis Gregorio. López, Cambroner. Sistema de Mejora Continua de la Calidad en el Laboratorio: Teoría y Práctica. 1ª Edición. Editorial Universitat de Valencia. España. (2006).





---

## PREVALENCIA DE NOROVIRUS COMO AGENTE ETIOLÓGICO DE GASTROENTERITIS EN NIÑOS VENEZOLANOS

Fabiano F, Suárez J, Calvo A, Naranjo L.

Aprobado para publicación mayo 2011. Publicado abril 2012

### RESUMEN:

Las gastroenteritis representan una causa importante de morbilidad y mortalidad en el mundo y en Venezuela. Su etiología en infantes es principalmente viral, encontrando a los Norovirus como agentes asociados. Considerando la escasa documentación al respecto, se realizó este estudio para evaluar la prevalencia de Norovirus en niños de 0 a 10 años con diarrea aguda que acudieron a la Policlínica Metropolitana en Caracas; verificando su asociación con otros factores etiológicos y demográficos. 102 muestras fecales fueron sometidas al análisis bacteriológico, parasitológico y viral, utilizando para la detección de Norovirus un ensayo ELISA RIDASCREEN® Norwalk-like-Virus. El análisis estadístico incluyó los índices O.R. y Chi-Cuadrado para analizar las frecuencias de los agentes etiológicos, permitiendo además verificar si la diarrea por Norovirus era independiente de otros patógenos, del sexo y grupos etareos. Se utilizó Excel y el paquete estadístico SPSS 1.0. Los resultados sugirieron que el riesgo de diarrea por Norovirus se sextuplicó en los niños de 1-2 años en comparación con los mayores a 5 años (O.R 5,8842 p:0,0070; x<sup>2</sup>210,879 p:0,012). En los casos positivos, la prevalencia de Norovirus fue del 68,9%, y 30% de ellos presentó coinfección con otros patógenos, pero la asociación no fue significativa (p>0,05). Considerando los casos de diarrea que quedan sin diagnosticar, sería lógico pensar que Norovirus circularía con una alta frecuencia en Venezuela, ya que la prevalencia fue superior a la reportada en otras poblaciones (39,2% vs 5-33%). El impacto de las infecciones por Norovirus en Venezuela se desconoce completamente y debe ser estudiado con mayor profundidad.

**Palabras claves:** Gestión de la Calidad, Lista de Verificación, Documentación.

## PREVALENCE OF NOROVIRUS LIKE GASTROENTERITIS ETIOLOGIC AGENT IN VENEZUELAN CHILDREN

### SUMMARY

Gastroenteritis is a very important cause of morbidity and mortality in Venezuela and the rest of the World. Their etiology on children is mainly caused by viruses, including Norovirus. Considering the lack of related documentation in Venezuela, we performed a study in order to calculate the prevalence of Norovirus on children between 0 to 10 years old, with acute diarrhea treated on the Policlínica Metropolitana, Caracas; also we analyzed his association with other etiological and demographic factors. 102 stool samples were tested for bacteria parasitic and viruses. For Norovirus we used the ELISA RIDASCREEN® Norwalk-like-Virus, (r-biopharm, Germany). The statistical calculations included O.R. and Chi Square ratios, in order to analyze the frequency of the different etiological agents and also to verify if the diarrheas for Norovirus were independent from other pathogenic agents, sex or age groups. We used Excel® and SPSS® 1.0 software for statistical calculations. The results suggested that that the risk of getting a diarrhea caused for Norovirus was 6 times higher on children from 1 to 2 years old than those older that five years old. (O.R 5,8842 p:0,0070; x<sup>2</sup>210,879 p:0,012). The prevalence for Norovirus was 68,9%, and 30% of them presented simultaneous infection with other pathogenic agents, but this association wasn't significative (p>0,05). Considering the high number of diarrhea cases that lack of a proper etiological diagnostic, it's possible that the Norovirus are circulating with a high frequency in Venezuela, due the prevalence reported on this study is above the reported in other population studies (39,2% vs 5-33%). The actual impact of Norovirus in Venezuela is still unknown and must be study with more detail.

Key words: Prevalence, norovirus, diarrhea, gastroenteritis.

---

**Solicitar copia a:** Fabiola Fabiano

<sup>1</sup>Laboratorio Metropolitano. Policlínica Metropolitana. Caracas-Venezuela.

## Introducción

Las gastroenteritis representan una causa importante de morbimortalidad en el mundo, especialmente en países en desarrollo (1). Los niños y ancianos constituyen los grupos más susceptibles a estas enfermedades. En Venezuela se estima que anualmente ocurren aproximadamente 1,32 millones de casos de diarrea (2), representando en los últimos años la novena causa de muerte en la población general y la segunda en menores de 4 años (3), considerándose así como uno de los principales problemas de salud pública en nuestro país.

La mayoría de las diarreas infecciosas en niños son de etiología viral, encontrando a los Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus y Calicivirus como agentes asociados a estos cuadros. Investigaciones recientes han sugerido que los Calicivirus juegan un papel en salud pública mucho más importante de lo que inicialmente se sospechaba.

Esta familia de virus se caracteriza por una gran diversidad antigénica y genética, y se encuentra conformada por cuatro géneros:

Vesivirus, Lagovirus, Norovirus (antiguamente llamado Norwalk-like-virus) y Sapovirus (antiguamente llamado Sapporo-like-virus). Debido a que las relaciones antigénicas entre los Calicivirus permanecen aún poco claras, la mayoría de ellos han sido denominados según la localidad geográfica de su primer descubrimiento.

Así el prototipo de virus Norwalk debe su nomenclatura a los hallazgos correspondientes a un brote de gastroenteritis aguda en 1968 en una escuela de Norwalk Ohio, Estados Unidos (4). Con el progreso de las técnicas moleculares hoy se sabe que es un virus pequeño, redondeado, con un genoma de ARN de cadena simple y sentido positivo.

Actualmente se considera a los Norovirus como principales agentes virales asociados a brotes de diarrea en humanos, y se perfilan como causa importante de diarreas endémicas (1,5). Estudios hechos en países desarrollados y en desarrollo estiman que entre el 20% y el 30% de las gastroenteritis infantiles son causadas por Norovirus (6). Los síntomas asociados a este cuadro clínico incluyen vómitos, diarrea acuosa no sanguinolenta, dolor abdominal, fiebre y náuseas, con un período de incubación entre 1 y 4 días. Generalmente la recuperación es completa y sin complicaciones. Las muertes asociadas a este

tipo de infecciones son infrecuentes, aunque se han descrito algunos casos en ancianos.

Considerando estos hallazgos, y conociendo que hasta el momento la documentación existente en nuestro país en el área es limitada, se realizó este estudio con el fin de evaluar la prevalencia de Norovirus en una población de niños venezolanos de 0 a 10 años afectados con diarrea aguda que acudieron al servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana en Caracas, Venezuela; así como verificar si existe asociación significativa con otros agentes etiológicos y ciertos factores demográficos.

## Materiales y Métodos

### Población en estudio

Se analizaron un total de 102 muestras fecales provenientes de individuos de edades inferiores a 10 años, ambos sexos (48 femeninos, 54 masculinos), no relacionados entre sí, con un cuadro de diarrea aguda de evolución no superior a 72 horas, sin antibioterapia durante las primeras cuatro semanas anteriores al episodio, sin desnutrición ni alteraciones congénitas.

Se definió el cuadro de diarrea aguda como la presencia de tres evacuaciones líquidas o semilíquidas, o una evacuación de consistencia alterada y/o sanguinolenta en 24 horas.

Luego de informar al representante del niño de los objetivos del estudio y obtener su consentimiento, se registraron los datos al momento del ingreso a la Emergencia de la Policlínica: Edad, sexo, procedencia, fecha de consulta, fecha de inicio de los síntomas e ingesta de alimentos previos al episodio. En la historia clínica del paciente se incluyeron las manifestaciones clínicas (fiebre, vómitos, número de evacuaciones, dolor abdominal, fiebre, cefalea, deshidratación) y las características de las evacuaciones (consistencia, presencia de sangre y/o moco).

### Procesamiento de las muestras

Las muestras fueron obtenidas por emisión espontánea o mediante el uso de cucharillas rectales, y transportadas bajo condiciones apropiadas al laboratorio<sup>7</sup>. La conservación se realizó en medio de Cary Blair para el estudio bacteriológico; a temperatura ambiente durante un período no mayor a 1 hora para el estudio parasitológico, y no mayor a 5 horas para el estudio viral. Se realizó el estudio parasitológico, bacteriológico y viral (Adenovirus, Rotavirus y

Norovirus) para cada una de ellas. Los métodos de diagnóstico para la detección de parásitos intestinales incluyeron examen macroscópico de las heces y examen microscópico por el método directo (7).

Para el estudio bacteriológico, las muestras fueron sembradas en agar MacConkey, agar Levine, agar Salmonella-Shigella, agar de xilosa-lisina-desoxicolato, caldo Selenito y agar Preston suplementado con cefoperazona para la investigación de Campylobacter. Los microorganismos aislados fueron identificados por métodos estandarizados (8).

La detección de Rotavirus y Adenovirus se realizó utilizando el ensayo rápido RIDA®Quick Rotavirus/Adenovirus (r-biopharm) (9). La metodología utilizada para la detección de Norovirus incluyó un ensayo inmunoenzimático tipo ELISA RIDASCREEN® Norwalk-like-Virus (r-biopharm AG Germany) que permitió bajo condiciones apropiadas, el diagnóstico in vitro mediante la identificación cualitativa de los virus Norwalk-like del genogrupo I y II (10).

### Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo de las variables en estudio y se obtuvieron los índices de Odd Ratio (O.R) para cada caso. Se aplicó la prueba de Chi-Cuadrado a fin de realizar el análisis comparativo de las frecuencias de los agentes etiológicos. Igualmente, la prueba estadística permitió verificar si la diarrea por Norovirus fue independiente de la presencia de otros agentes patógenos, del sexo y de los grupos etareos en la población estudiada, para un intervalo de confianza del 95%.

Se utilizó Excel y el paquete estadístico SPSS versión 1.0 para crear la base de datos correspondiente y se ejecutaron los procedimientos estadísticos para su posterior análisis. Serán excluidos del análisis de O.R y Chi-Cuadrado aquellos individuos cuyo resultado de Norovirus fue indeterminado.

## Resultados

### Características de la población estudiada

La distribución de los individuos por grupos etareos se resume en la Tabla 1, utilizando el grupo de 5-<10 años como punto de comparación. Al evaluar los O.R y su respectiva significación, se obtiene específicamente que el riesgo de diarrea por Norovirus casi se sextuplica en la subpoblación de niños con edades comprendidas entre 1 y 2 años en comparación a la subpoblación de niños con

edades superiores a 5 años, siendo estos resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ )

**Tabla 1. Edades de la población infantil estudiada y valores O.R de la presencia de Norovirus en diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

Grupo etareo (años)	Casos (n)	Porcentaje (%)	O.R	p-valor
0 - < 1	12	1,8	4.3590	0.0510
1 - < 2	39	38,2	5.8842	0.0070
2 - < 5	21	20,6	1.2260	0.6922
5 - < 10	30	29,4		
Total	102	100		

Al aplicar la prueba de Chi-Cuadrado para contrastar la independencia entre la presencia de Norovirus y factores demográficos, se obtuvo en relación al sexo, que aún cuando los varones predominaron sobre las hembras, los grupos no presentaron diferencias estadísticamente significativas respecto a la presencia del virus como agente etiológico de diarrea aguda ( $p > 0,05$ ). Por el contrario, sí se presentaron diferencias significativas en relación a la edad del individuo ( $p < 0,05$ ), tal como se evidencia en la Tabla 2.

**Tabla 2. Valores de Chi-Cuadrado de la presencia de Norovirus en niños afectados con diarrea aguda según su asociación a factores demográficos. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

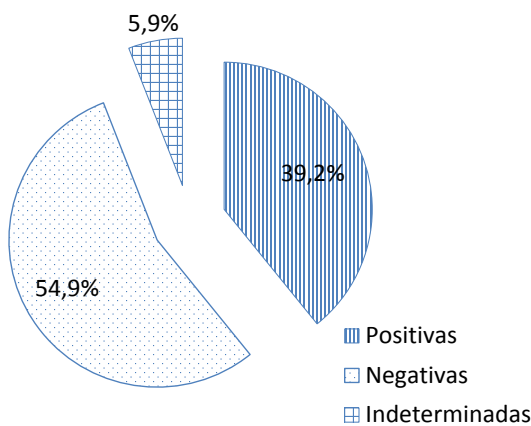
Factor	c2	p-valor
Sexo	2,002	0,157
Edad	10,879	0,012

### Frecuencia de los agentes etiológicos

En una elevada proporción de los casos (54,9%) no se identificó ningún agente patógeno. La frecuencia de Norovirus para el total de muestras analizadas se determinó tanto de forma absoluta como porcentual, tal como se muestra en la Tabla 3 y la Figura 1.

**Tabla 3. Frecuencia de Norovirus en niños afectados con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

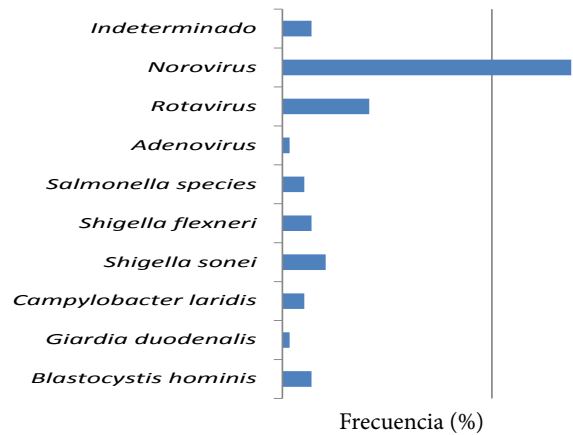
Norovirus	Casos (n)	Porcentaje (%)
Positivo	40	39,2
Negativo	56	54,9
Indeterminado	6	5,9
Total	102	100



**Figura 1. Distribución de la frecuencia de Norovirus en niños afectados con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

Los agentes etiológicos detectados con mayor frecuencia en niños afectados con diarrea aguda fueron Norovirus (68,9%), seguidos de Rotavirus (20,7%), Shigella sonei (10,3%), Shigella flexneri (6,9%), Salmonella species (5,2%), Campylobacter laridis (5,2%). Los parásitos enteropatógenos desempeñaron un papel poco importante como causa de diarrea: Blastocystis hominis (6,9%), Giardia duodenalis (1,7%). Adenovirus entérico igualmente presentó poca importancia (1,7%) (Figura 2).

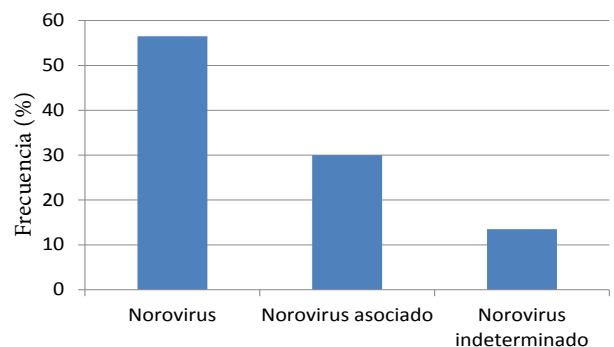
De las 40 muestras positivas para Norovirus, el 30% presentó coinfección con otros patógenos (Tabla 4), sin embargo la asociación no fue estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Norovirus fue aislado como único agente etiológico en el 56,5% de los casos, tal como se muestra en el Figura 3.



**Figura 2. Frecuencia de los agentes etiológicos en diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

**Tabla 4. Coinfección de Norovirus y otros patógenos en niños con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

Clasificación de coinfección	Casos (n)
Norovirus-Rotavirus	4
Norovirus-Shigella sonei	4
Norovirus-Shigella flexneri	1
Norovirus-Campylobacter laridis	1
Norovirus-Salmonella species	2
Norovirus-Shigella sonei-Rotavirus	1
Norovirus-Salmonella species-Shigella sonei	1
Total de casos	14



**Figura 3. Distribución de la frecuencia de Norovirus en niños con diarrea aguda. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

Al comparar la frecuencia de Rotavirus, Adenovirus, bacterias y parásitos enteropatógenos como agentes etiológicos de diarrea aguda, se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas, según se evidencia en la Tabla 5.

**Tabla 5. Valores de O.R y Chi-Cuadrado de la presencia de Norovirus en niños con diarrea aguda según su asociación a agentes etiológicos. Servicio de Emergencia de la Policlínica Metropolitana. Caracas, Venezuela.**

Factor	O.R.	p	$\chi^2$	P
Parásitos enteropatógenos	0,4540	0,5009	0,638	0,490
Rotavirus	1,0000	1,0000	0,000	1,000
Adenovirus	0,0028	0,7914	0,722	0,396
Bacterias enteropatógenas	2,7777	0,0709	3,429	0,064

## Discusión

Es sabido que la diarrea constituye un problema de salud pública en el mundo, especialmente en los países en desarrollo donde representa una importante causa de morbilidad en niños menores de 5 años.

Múltiples episodios de diarrea en el primer año de vida pueden deteriorar en forma importante el estado nutricional del individuo y dejar serias secuelas. En Asia, África y América Latina anualmente mueren aproximadamente 3,3 millones de niños menores de 5 años, y ocurren más de mil millones de episodios (1,3). En Venezuela se estima que ocurren 2,2 episodios de diarrea por niño y año, cifra similar a la registrada en el mundo: 2,5 episodios por niño y año. Su etiología no está bien determinada en el país debido a que los datos que se registran en las estadísticas nacionales solo corresponden al número de casos clínicos y grupos etareos afectados. Considerando que la mayoría de las diarreas infecciosas en la edad pediátrica son de etiología viral, muchos son los estudios que demuestran la importancia de Rotavirus como causa de diarrea y deshidratación durante los dos primeros años de vida. Sin embargo, investigaciones recientes aportan evidencias que sugieren fuertemente que Norovirus podría ser causa importante de diarrea aguda en nuestros niños. En base a estos hallazgos y considerando que numerosos casos de diarrea en el país quedan sin diagnosticar, sería lógico pensar que Norovirus circularía con una alta frecuencia en Venezuela. En

nuestro estudio, realizado en la ciudad de Caracas, se evaluó la presencia de este agente viral en una población de niños afectados con diarrea aguda, obteniéndose una prevalencia de 39,2%; siendo superior a la reportada por otros autores en otras poblaciones, donde la prevalencia oscila entre un 5 y un 33% (10,11).

En el 56,5% de los casos positivos se identificó Norovirus como único agente etiológico, mientras que en otro 30,4% de los casos se obtuvo una coinfección con otros patógenos, aunque en ninguno de ellos la asociación fue estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Debido a la significancia estadística obtenida ( $\chi^2$  3,429  $p$ : 0,064) y al número de pacientes evaluados, sería interesante realizar estudios posteriores con mayor número de casos que permitiera obtener más información de la asociación de Norovirus con bacterias enteropatógenas. Aún cuando la proporción de individuos varones fue ligeramente superior a la de las hembras, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas respecto al sexo ( $\chi^2$  2,002  $p$ : 0,157). La edad representó el único factor determinante en la prevalencia de Norovirus como agente etiológico de diarrea aguda, lo cual ha sido demostrado con anterioridad tanto a nivel nacional como internacional (2,5). La mayor incidencia fue observada en el grupo etareo de 1 a 2 años, con diferencias estadísticamente significativas respecto a los otros grupos (O.R 5,8842  $p$ : 0,0070;  $\chi^2$  10,879  $p$ : 0,012). Nuestros resultados demuestran que el riesgo de diarrea por Norovirus casi se sextuplica en este grupo de niños, tal como lo refieren diversos autores para otras poblaciones (12).

Las características epidemiológicas de la diarrea aguda presentan una gran variabilidad regional particularmente acentuada entre los países en desarrollo y desarrollados, debido a que están relacionadas con las condiciones de vida de la población. Sin embargo, según los resultados obtenidos en nuestra investigación se podría afirmar que las cepas de Norovirus detectadas en el país parecen ser de circulación universal.

Aunado a ello, nuestros resultados coinciden con los obtenidos para otras poblaciones. Teniendo en cuenta que la detección y caracterización de estos agentes se ve complicada por la alta variabilidad genética que presentan, es probable que esto explique el porcentaje de muestras indeterminadas obtenidas, ya que podrían tratarse de otras variantes diferentes al genogrupo I y II. Lo que sí queda claro a través de este estudio es la existencia

y circulación del virus en nuestro medio y por tanto la importancia de su investigación en la etiopatogenia de la gastroenteritis.

### Conclusiones

Los resultados de nuestra investigación arrojaron una prevalencia de Norovirus de 39,2%, lo cual demuestra que estos agentes virales circulan en el país. Cerca de la mitad de los casos de diarrea que ocurren en Venezuela queda sin ser diagnosticado, es probable que estos virus sean responsables de un porcentaje significativo de ellos.

El impacto de las infecciones por Norovirus como agentes etiológicos de gastroenteritis en Venezuela se desconoce completamente y debe ser estudiado con mayor profundidad.

### Referencias

1. Shaw RD et al. Viral infections of the gastrointestinal tract. *Curr Opin Gastr.* 1999. 15:53-64.
2. Urrestarazu M.I, y col. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Rev. Panam. de Salud Pública* 1999. 6: 149-156.
3. Venezuela, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Principales causas de muerte en Venezuela, 1986-1990. Caracas: Dirección de Planificación y Estadística; 1994.
4. Kapikian A.Z. Norwalk-like Viruses. In *Viral Infections of the Gastrointestinal Tract.* 1994. 471-518.
5. Pang X.L, Joensuu T. Human calicivirus associated sporadic gastroenteritis in Finnish children less than two years of age followed prospectively during a rotavirus vaccine trial. *Pediatr. Infect. Dis.* 1999. 18: 420-426.
6. Glass R, et al. The changing epidemiology of Astrovirus associated gastroenteritis. *Arch. Virol.* 1996. Sup.12: 287-300.
7. Rodríguez M. Parásitos intestinales. Métodos de diagnóstico. MSDS. Dirección general de salud ambiental y contraloría sanitaria. Escuela de Malariología "Dr. Arnoldo Gabaldón". División de Post-grado.
8. Lennette E, et al. *Manual of Clinical Microbiology.* 4ta ed. American Society for Microbiology; 1985.
9. RIDA®Quick Rotavirus/Adenovirus Combi (N 1002). r-biopharm.
10. Koopmans M, et al. Molecular epidemiology of human enteric caliciviruses in the Netherlands. *J Infect Dis* 2000; 181 (suppl 2):S262-9.
11. Phan TG, et al. Viral diarrhea in Japanese children: results from a one-year epidemiologic study. *Clin Lab.* 2005; 51(3-4):183-91.
12. Fretz R, et al. Frequency of Norovirus in stool samples from patients with gastrointestinal symptoms in Switzerland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005 Mar; 24(3):214-6.



**Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas**, publica artículos originales, revisiones, cartas al editor y comunicaciones breves relacionadas con biología humana, bioanálisis y áreas afines, que contribuyan al avance de la investigación y difusión científica

#### Envío del Trabajo

El autor debe enviar un original del artículo, con una carta de presentación firmada por todos los autores como constancia escrita que han contribuido en el diseño, ejecución, análisis e interpretación de los datos, redacción del artículo y, en la revisión crítica del contenido del artículo original a ser publicado. Debe dejar constancia que el trabajo no ha sido publicado ni enviado a otra revista. También indicar el orden de los autores y el autor de correspondencia con su dirección y correo electrónico. Los autores cuando presentan el manuscrito, deben revelar todas las entidades financieras y las relaciones personales que puedan haber influido en el trabajo, es decir deben declarar explícitamente si existen o no conflicto de intereses.

La revista utiliza en forma preferencial el sistema electrónico, por lo tanto debe acompañar el envío de un CD, en "Word for Windows", en cuya etiqueta se indique el nombre del autor principal.

#### Sistema de Arbitraje

Todos los artículos originales pasan por un proceso de arbitraje externo, realizado por tres árbitros con experticia en el tema específico. Las revisiones igualmente son evaluadas por especialistas. La decisión se tomará de acuerdo a la opinión de los árbitros aprobada por el Comité Editorial. La autoría del artículo y el arbitraje, son del dominio exclusivo del Comité Editorial. Los autores recibirán la opinión de los árbitros con las recomendaciones por parte del Comité en cuanto a modificaciones de forma y redacción. Las respuestas deben enviarse en un lapso prudencial, con una carta donde el autor señale las modificaciones realizadas y argumente aquellas que no considera adecuadas.

#### Normas Editoriales

Todas las partes del manuscrito deben estar escritas a doble espacio. Cada sección comenzará en página nueva, todas numeradas, con la siguiente secuencia: página del título, nombre completo de los autores (sin títulos profesionales), dirección de la(s) institución(es) donde fue realizado, y señalar con números consecutivos la que corresponde a cada autor.

Los artículos originales deben guardar la siguiente estructura:

Título en español e inglés (corto, no más de 15 palabras, 75 caracteres), Titulillo en español Resumen y Palabras Clave en español e inglés), Introducción, Metodología, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Referencias. Cuadros e Ilustraciones. Cada sección debe comenzar en hoja aparte, así como también los cuadros e Ilustraciones con sus respectivos pies o epígrafe.

*Resumen* debe establecer los objetivos del estudio, los procedimientos básicos (selección, métodos de observación y análisis) los hallazgos más importantes, proporcionar datos específicos y, significación estadística y las conclusiones principales sobre la base de los resultados del estudio. No debe contener referencias ni siglas que no estén identificadas. El límite máximo son 250 palabras y no debe ser estructurado. Al final del resumen deben estar 3 a 10 palabras clave, que incluyan descriptores en inglés, de la lista del "Medical Subject Headings (MeSH) y en español de la lista de "descriptores en Ciencias de la Salud" (DECS).

*Introducción* expresa el propósito del artículo, los antecedentes internacionales y nacionales, mediante referencias actualizadas. En el último párrafo de la introducción debe aparecer en forma clara y precisa el objetivo del estudio.

*Metodología* describa claramente como se seleccionaron los sujetos que participaron en el estudio, edad, sexo y otras características importantes. En

los manuscritos de revisión se incluirá una sección en la que se describan los métodos utilizados para localizar, seleccionar o extraer los datos.

Los estudios con humanos deben dejar constancia escrita de la aprobación por parte del Comité de Ética de la institución donde se realizó la investigación, así como el consentimiento de los individuos que participaron y, evitar en todo momento que puedan ser identificados, tener especial cuidado con las fotografías. Cuando se trate de experimentos con animales, mencione si se cumplieron las normas de la institución acerca del cuidado y uso de animales en el laboratorio.

Describa los métodos estadísticos con detalle suficiente para que puedan verificarse los resultados. Defina los términos, las abreviaturas y los símbolos estadísticos. Cuando sea posible, cuantifique los resultados y preséntelos con indicadores apropiados de medición de error o incertidumbre (como intervalos de confianza).

*Resultados.* Presente los resultados en el texto, cuadros, ilustraciones y figuras en una secuencia lógica. No repita en el texto la información que contienen los cuadros y figuras, sólo destaque lo más importante. Utilice en esta sección el tiempo pretérito.

*Discusión.* Destaque los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones que se derivan de los resultados. Cuidese de no repetir la información ya presentada en las secciones anteriores. Relacione las observaciones con la de otros estudios internacionales y nacionales, incorporando en la discusión el análisis de las referencias bibliográficas actualizada relacionadas con el estudio. Establezca el nexo entre las conclusiones y los objetivos del estudio, y cierre la discusión con la conclusión más importante del estudio o con la propuesta de nuevas hipótesis, cuando estén justificadas.

Las Revisiones pueden ser solicitadas por el Editor preferentemente a especialistas sobre un tema de importancia científica en la actualidad,



pero también se aceptan revisiones de autores, las cuales seguirán el proceso de arbitraje externo.

En la revista también se publican reportes cortos de hallazgos de interés para el ámbito de la revista, así como casos clínicos cuya ocurrencia sea un verdadero hallazgo.

Las cartas al editor, por lo general están referidos a comentarios de artículos recientes publicados en la revista y su extensión no debe ser mayor a dos páginas.

**Cuadros.** Cada cuadro debe escribirse a doble espacio, sin líneas verticales ni horizontales internas y en hoja aparte. Numérelos consecutivamente con números arábigos y asigne un título breve en minúscula. Cada columna llevará un encabezamiento corto o abreviado. En las notas al pie se explicarán todas las abreviaturas no usuales empleadas en el cuadro. Si incluye datos publicados o inéditos o de otra fuente, obtenga la autorización para reproducirlos y conceda el reconocimiento al autor. No incluya más de 5 cuadros, máximo de 5 columnas y 8 filas.

**Ilustraciones (Figuras)** Las figuras deben estar dibujadas en forma profesional (archivos electrónicos de las figuras en formato JPEG o GIF). Se numeran en forma consecutiva con números arábigos. Las fotografías deben ser en blanco y negro, con buen contraste, en papel satinado con las siguientes medidas 127x173 mm, sin exceder 203x 254 mm. Ubicar una por página, título breve y una leyenda que facilite la comprensión del contenido.

**Agradecimientos** Aparecen al final del texto, allí se incluyen las colaboraciones que deben ser reconocidos pero que no justifican la autoría, ayuda técnica, apoyo financiero y material y las relaciones que puedan suscitar conflicto de intereses.

#### Referencias

Las referencias bibliográficas dan el soporte científico al estudio realizado, por lo tanto deben ser recientes, preferiblemente de los últimos cinco años. Las referencias internacionales y nacionales constituyen antecedentes

del estudio que se está publicando, de esta manera, también reconocemos la labor de los investigadores venezolanos que han aportado al tema en estudio. Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden como se mencionan por primera vez en el texto. Cite cuidadosamente en el texto, cuadros y figuras todas las referencias con un número entre paréntesis. Cuide que la escritura reproduzca fielmente el artículo original y vigile la escritura en inglés, para evitar cometer errores al transcribir la información.

Las referencias bibliográficas en Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, siguen el estilo de las normas de Vancouver. (<http://www.icmje.org>). Abrevie los títulos de las revistas de acuerdo con el estilo del Index Medicus y consulte la lista de revistas indizadas en (<http://www.nlm.nih.gov>). No se aceptan como referencias resúmenes. Los artículos aceptados pero que todavía no se han publicado, se indican como "en prensa", con la información de la revista donde fue aceptado.

Ejemplos de referencias:

#### Artículos de revista

Enumere los primeros seis autores y añada la expresión "et al"

1. *Artículo de revista ordinario*  
Bremer AA, Byrd RS, Auinger P. Racial trends in sugar-sweetened beverage consumption among US adolescents: 1988-2004. *Int J Adolesc Med Health* 2011; 23(3):279-86.

#### Libros

2. *Individuos como autor:*  
Casademunt J. *Sobrepeso y obesidad infantil*. Barcelona: Editorial Océano; 2005.

3. *Editores como autor:*  
Alemán M, Bernabeu-Mestre JB, editores. *Bioética y Nutrición*. Alicante. Universidad de Alicante: Editorial Agua Clara; 2010.

4. *Capítulo de libro:*  
López de Blanco M, Landaeta-Jiménez M. *Los estudios de crecimiento y desarrollo físico en Venezuela*. En: Fano V, Del Pino M, Cano S, compiladores.

*Ensayo sobre crecimiento y desarrollo presentado al Dr. Horacio Lejarraga por sus colegas y discípulos*. Buenos Aires: Paidós; 2011. p. 431-454.

#### Material electrónico

5. Artículo de revista en Internet:

Vázquez de la Torre MJ, Vázquez Castellanos JL, Crocker Sagastume R. Hipertensión arterial en niños escolares con sobrepeso y obesidad. *Respyn [Serie en Internet]* 2011 Jul-Sep [citada 5 nov 2011]; 12(3): [6 pantallas]. Se consigue en: URL: [http://www.respyn.uanl.mx/xii/3/articulos/Hipertension\\_arterial.htm](http://www.respyn.uanl.mx/xii/3/articulos/Hipertension_arterial.htm)

Para otros ejemplos de formato de referencias bibliográficas, los autores deberían consultar la página web: [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html). Para cualquier otro tipo de información se sugiere consultar: Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication Updated April 2010. <http://www.icmje.org>.

Antes de enviar el artículo, revise cuidadosamente las instrucciones a los autores y verifique si el artículo cumple con los requisitos editoriales de la revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas