



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 17 - No. 2

Año 2014

Órgano Oficial de la SVBE

CONTENIDO

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 43

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Análisis de polimorfismos genéticos de Glutación S-Transferasa: GSTM1 y GSTT1, en pacientes venezolanos con leucemia

Sabrina Ferraz, Marycarmen Chacín, Johana Angulo, Verónica Araujo, Martha Bravo y Anabel Arends..... 44

Biomarcadores serológicos en el inmunodiagnóstico de la condición celíaca

Lenitza González, María Fátima Garcés, Mercedes Fernández, Josefa Villasmil..... 51

Hongos filamentosos patógenos y emergentes en el Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta. Caracas-Venezuela

Xiomara Moreno, Gustavo Martínez, Carolina Macero..... 59

Evaluación de estrés académico, cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival en estudiantes de Bioanálisis de la UCV

Matilde Medina-Martel, Engelbert Jiménez, Isis Bello, Fariel Casadiegos, Marlene Briceño..... 66

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Epidemiología de las enfermedades fúngicas invasoras

Xiomara Moreno 75

AGRADECIMIENTOS PARA LOS ÁRBITROS EN 2014..... 81

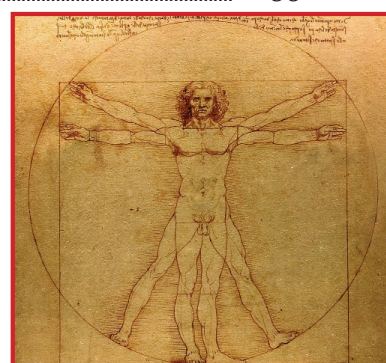
ÍNDICE ACUMULADO POR AUTORES..... 82

ÍNDICE ACUMULADO POR TÍTULOS..... 84

ÍNDICE ACUMULADO POR PALABRAS CLAVES..... 85

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 86

Revista arbitrada e indizada
LILACS (BIREME)
Depósito Legal 199202DF899
ISSN 1315-1746
Miembro ASEREME



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

Volumen 17. No 2.
Año 2014



Revista arbitrada e indizada dedicada a publicar los trabajos de los profesionales del Bioanálisis en investigación básica y aplicada.

Dirección: Av. Ppal c/c Alfredo Jahn y Alvarez Michaud.
Casa Colegio de Bioanalistas. Nro. 13-01. Urb. Los
Chorros. Zona Postal 1070. Caracas - Venezuela.

ISSN: 1315-1746

Depósito Legal: pp 199202DF899

Indizada

LILACS (BIREME)

MIEMBRO ASEREME

Publicación Semestral de la SVBE

2013-2014

Consejo Directivo

Editora

Dra. María Fátima Garcés

Gerencia Editorial

Dra. María Fátima Garcés

Gerencia Administrativa

MSc. Yacelli Bustamante

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

Junta Directiva

Presidenta

MSc. Yaniska Fránquiz

Dirección General

Dra. María Fátima Garcés

Dirección Científica

Esp. Shasbleidy Díaz

Dirección Administrativa

MSc. Yacelli Bustamante

Dirección de Proyectos y Divulgación Científica

Esp. Valmore Rodríguez

Comisión evaluadora de credenciales:

MSc. Yacelli Bustamante

Esp. Valmore Rodríguez

Comisión para otorgar unidades crédito

Lic. Josefina Guariguata

Esp. Shasbleidy Díaz

Comité de Redacción

Dra. Priva Zabner de Oziel, Esp. Noel Silva
Esp. Shasbleidy Díaz, Esp. Valmore Rodríguez
Dra. María Fátima Garcés, Lic. Giuseppe Ferrara,
Dra. Merlyn Vivenes, Lic. Celsy Hernández,
MSc Hilda Stekman.



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENIDO

Vol. 17 - No 2

2014

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 43

ARTÍCULOS ORIGINALES:

Análisis de polimorfismos genéticos de Glutación S-Transferasa: GSTM1 y GSTT1, en pacientes venezolanos con leucemia

Sabrina Ferraz, Marycarmen Chacín, Johana Angulo, Verónica Araujo,
Martha Bravo y Anabel Arends..... 44

Biomarcadores serológicos en el inmunodiagnóstico de la condición celíaca

Lenitza González, María Fátima Garcés, Mercedes Fernández, Josefa Villasmil..... 51

Hongos filamentosos patógenos y emergentes en el Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta. Caracas-Venezuela

Xiomara Moreno, Gustavo Martínez, Carolina Macero..... 59

Evaluación de estrés académico, cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival en estudiantes de Bioanálisis de la UCV

Matilde Medina-Martel, Engelbert Jiménez, Isis Bello, Fariel Casadiegos, Marlene Briceño..... 66

ARTÍCULOS DE REVISIÓN:

Epidemiología de las enfermedades fúngicas invasoras

Xiomara Moreno 75

AGRADECIMIENTOS PARA LOS ÁRBITROS EN 2014..... 81

ÍNDICE ACUMULADO POR AUTORES..... 82

ÍNDICE ACUMULADO POR TÍTULOS..... 84

ÍNDICE ACUMULADO POR PALABRAS CLAVES..... 85

INFORMACIÓN PARA AUTORES..... 86



Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 17 - No 2

2014

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 43

ORIGINAL ARTICLES:

Analysis of genetic polymorphisms of Glutathione S-Transferase: GSTM1 and GSTT1 in Venezuelan patients with leukemia

Sabrina Ferraz, Marycarmen Chacín, Johana Angulo, Verónica Araujo,
Martha Bravo y Anabel Arends..... 44

Serological biomarkers for immunodiagnosis of celiac disease

Lenitza González, María Fátima Garcés, Mercedes Fernández, Josefa Villasmil 51

Filamentous fungi and emerging pathogens in the Department of Microbiology Medical Institute Florest. Caracas-Venezuela

Xiomara Moreno, Gustavo Martínez, Carolina Macero,..... 59

Evaluation of academic stress, serum cortisol and salivary α -amylase in UCV Bioanalysis students

Matilde Medina-Martel, Engelbert Jiménez, Isis Bello, Fariel Casadiegos, Marlene Briceño..... 66

REVIEW ARTICLE:

Epidemiology of invasive fungal diseases

Xiomara Moreno 75

ACKNOWLEDGMENT FOR REFEREES IN 2014 81

CUMULATIVE INDEX BY AUTHORS..... 82

CUMULATIVE INDEX BY TITLES..... 84

CUMULATIVE INDEX BY KEY WORDS..... 85

INFORMATION FOR AUTHORS..... 86

EDITORIAL

La revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas finaliza este año con gran satisfacción gracias al arduo trabajo del Comité editorial y de redacción y por supuesto a la excelente labor de los árbitros cuyas sugerencias permitieron mejorar la calidad de los artículos aquí publicados.

Deseamos que la revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas continúe siendo el foro ideal donde los profesionales del Bioanálisis y ramas afines de Ciencias de la Salud encuentren el espacio necesario para actualizarse, publicar sus productos y seguir contribuyendo con la salud en el país. Invitamos a todos los lectores a colaborar con nuestra revista, ya sea con sus trabajos originales, revisiones o artículos de historia.

En esta oportunidad es un placer felicitar al Comité organizador del XVI Congreso de Bioanálisis especialmente a su Presidenta la licenciada Lenis García por el éxito obtenido. Todos sabemos lo difícil que es, en estos días comprometerse a realizar esta misión, pero gracias al apoyo de los Bioanalistas, casas comerciales lograron su objetivo. En este número publicamos junto a los trabajos científicos recibidos, los trabajos correspondientes a los premios: “Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas”, Estudiantes “Dra. Franca Billi”, además premio al mejor cartel que fueron otorgados en el mencionado evento científico.

Es un orgullo para los Bioanalistas y para todos los investigadores del área de la Salud, contar con, Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas, una revista científica única del gremio, que fue dirigida excelentemente por la Dra. Ana Monzón de Orozco (+) y que hoy en día continua con su misión haciendo honor a las enseñanzas de nuestra querida Anita. Nuestra revista esta indizada en Lilacs y Asereme, lo que le da la altura necesaria para garantizar la lectura internacional de nuestros trabajos científicos. Esperamos contar, como siempre con su apoyo al enviar sus trabajos de investigación para ser publicados en próximos números.

Nuestros más cordiales saludos y afectos

Dra. María Fátima Garcés
Editora.

PREMIO SOCIEDAD VENEZOLANA DE BIOANALISTAS ESPECIALISTAS 2014
ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE GLUTATIÓN S-TRANSFERASA:
GSTM1 Y GSTT1, EN PACIENTES VENEZOLANOS CON LEUCEMIA

Sabrina Ferraz^{1,2}, Marycarmen Chacín¹, Johana Angulo¹, Verónica Araujo¹, Martha Bravo¹ y Anabel Arends¹

¹ Laboratorio de Investigación de Hemoglobinas Anormales, Instituto Anatómico "Dr. José Izquierdo", ² Cátedra de Bioquímica "B",
Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela.

Recibido para publicación el 15 septiembre 2014. Aprobado para publicación el 15 noviembre 2014.

RESUMEN:

Las Glutathione S- Transferasa (GSTs) son una familia de enzimas de fase II involucradas en la desintoxicación de un amplio rango de agentes químicos xenobióticos, incluyendo carcinógenos ambientales, así como fármacos quimioterapéuticos. Variaciones inter individuales en los loci de GSTM1 y GSTT1 han sido asociadas a diversos tipos de cáncer, incluyendo leucemias. Previa aprobación del consentimiento informado, se estudiaron 102 pacientes con diagnóstico de diferentes tipos de leucemia (LLA, LLC, LMA, LMC y tricoleucemia) y 322 controles sanos. Se realizó el genotipaje de GSTM1 y GSTT1 por la técnica PCR Multiplex. La frecuencia de polimorfismos genéticos determinados en GSTM1 nulo en pacientes con leucemia fue de 34.3% en comparación con los controles 41% (OR: 0.7519, 95% IC: 0.4722 - 1.1972, P value: 0.2296), para GSTT1 nulo los pacientes tuvieron una frecuencia de 28.4% y los controles 15% (OR: 2.1895, 95% IC: 1.2851 - 3.7302, P value: 0.0039). Se encontró una asociación estadísticamente significativa del genotipo nulo de GSTT1 como un factor de riesgo incrementado para desarrollar leucemia, el genotipo GSTM1 nulo no presentó dicha asociación. El genotipo combinado GSTM1-/GSTT1- no representó una relación como factor predisponente a leucemia. Los tipos de leucemia con mayor frecuencia del genotipo GSTM1 nulo fueron LLC y LLA, y para el genotipo GSTT1 nulo la más frecuente fue LMA. Los resultados obtenidos en este estudio permitieron conocer la susceptibilidad incrementada a desarrollar leucemia debido a la presencia del polimorfismo genético GSTT1 nulo en la población venezolana.

Palabras claves: Polimorfismos, Glutathione S-transferasa, leucemia.

ANALYSIS OF GENETIC POLYMORPHISMS OF GLUTATHIONE S-TRANSFERASE:
GSTM1 AND GSTT1 IN VENEZUELAN PATIENTS WITH LEUKEMIA.

SUMMARY

Glutathione S-transferase (GSTs) are a family of enzymes involved in phase II detoxification of a wide range of xenobiotic chemicals including environmental carcinogens, as well as chemotherapeutic drugs. Inter-individual variations in GSTM1 and GSTT1 loci have been associated with several types of cancer, including leukemias. After accepting the informed consent 102 patients with diagnosis of different types of leukemia (ALL, CLL, AML, CML and HCL) and 322 healthy controls. The GSTM1 and GSTT1 genotyping was performed by Multiplex PCR. The frequency of certain genetic polymorphisms GSTM1 null genotype in leukemia patients was 34.3% compared with controls 41% (OR 0.7519, 95% CI: 0.4722 - 1.1972, P value: 0.2296) for GSTT1 null genotype patients had a frequency of 28.4% and 15% of controls (OR 2.1895, 95% CI: 1.2851 - 3.7302, P value: 0.0039). A statistically significant association of GSTT1 null genotype was found as a risk factor for developing leukemia increased, GSTM1 null genotype showed no such association. The combined genotype GSTM1-/ GSTT1- not represent a relationship as a predisposing factor for leukemia. The types of leukemia with increased frequency of GSTM1 null genotype were CLL and ALL, and GSTT1 null genotype was the most frequent AML. The results of this studies provide insight increased susceptibility to develop leukemia because of the presence of GSTT1 null genetic polymorphism in the Venezuelan population.

Key words: Polymorphism, Glutathione S-transferase, leukemia.

Introducción

Glutathione S- transferasa (GST), pertenece a la superfamilia de enzimas citosólicas de fase II, involucradas en la conjugación y desintoxicación de un amplio rango de xenobióticos, así como especies reactivas de oxígeno (ROS) (1,2). Esta familia de enzimas (E.C.2.5.1.18) se encuentra codificada por cuatro

genes que a su vez forman subfamilias que han sido designadas: GST α , GST μ , GST θ y GST π , en las cuales se han encontrado polimorfismos genéticos (3). Las GSTs forman un complejo dimerico que tiene la capacidad de catalizar la conjugación de compuestos electrofílicos, pesticidas, carcinógenos medioambientales e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) (4). Este

Solicitar copia a: Sabrina Ferraz. (e-mail: Sabrina.ferraz28@gmail.com)

proceso de conjugación de componentes electrofílicos de glutatión, ocurre por una reacción que suele ser el primer paso en el proceso de desintoxicación que conduce a la formación de ácido mercaptúrico. GSTs también contribuyen a la desintoxicación de hidroperóxidos y aldehídos insaturados, incluyendo bases de purina y pirimidina reactivas y peroxidases lipídicas producidas por el daño oxidante al ADN y los lípidos, respectivamente, que son inducidos en condiciones de estrés oxidativo; adicionalmente estas enzimas participan en la desintoxicación de los metabolitos reactivos de drogas citotóxicas como doxorubicina, vincristina y etopósido, así como otros agentes alquilantes, pudiendo conllevar a la resistencia a fármacos (1, 5).

Dos miembros de esta superfamilia, GSTM1 y GSTT1, exhiben polimorfismos genéticos distribuidos con importantes diferencias étnicas en la población, con gran proporción de individuos que presentan deleciones homocigotas en los genes (6, 7). Los alelos de GSTM1*0 (GSTM1 nulo) y GSTT1*0 (GSTT1 nulo) representan las deleciones completas de los genes GSTM1 y GSTT1 respectivamente, resultando la pérdida de la actividad enzimática y confiriendo más susceptibilidad a daños en el ADN (8)(9)(10). Estas variantes delecionadas han sido usadas para estudios epidemiológicos moleculares del cáncer porque permiten dividir a los sujetos en estudio en dos clases de susceptibilidad bien definidas: los que son capaces y los que no tienen la capacidad de desintoxicación de carcinógenos potenciales a través de las vías metabólicas reguladas por GSTM1 y GSTT1 (8). GSTM1 es relevante particularmente en la desintoxicación de intermediarios carcinogénicos de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), tales como benzo(a)pireno (8). GSTT1 ha sido altamente conservado durante la evolución, y juega un papel importante en reacciones de biotransformación de fase II de un variado grupo de drogas y químicos industriales, por ejemplo, drogas citotóxicas, hidrocarburos reactivos más pequeños, como hidrocarburos halogenados y óxido de etileno (7)(11). Las deleciones de GSTM1 y GSTT1 han demostrado ser un factor de riesgo importante para el desarrollo de tumores sólidos, incluyendo cáncer de pulmón, laringe, vejiga, próstata, estómago y neoplasias hematológicas como leucemia, particularmente cuando están asociados a la ausencia de otras enzimas o frente a exposición prolongada de agentes carcinógenos (6,12,13). Estas evidencias encontradas como consecuencia de la pérdida de la actividad enzimática a

través de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 muestran la afectación global del metabolismo de carcinógenos sumando un alto riesgo de padecer cáncer.

La leucemia es una patología neoplásica del sistema hematopoyético que prolifera inicialmente en la médula ósea y posteriormente se disemina a la sangre periférica e incluso a otros tejidos. Esas células muestran defectos en su maduración y su acumulación en la médula ósea determinando el detenimiento de una hematopoyesis normal, a la que acaban sustituyendo, llegando a ser inmaduras la mayor parte de las células linfoides o mieloides que pasan a la sangre (14). Dependiendo de su agresividad y el grado de diferenciación de las células neoplásicas, la leucemia se puede clasificar en dos tipos principales: aguda y crónica.

Estudios preliminares han indicado una posible asociación entre genotipos nulos de GSTM1 y/o GSTT1 y la susceptibilidad de padecer leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crónica (LMC) y leucemia linfocítica crónica (LLC), considerándolos un factor de riesgo importante (6,11,15,16,17,18). Sin embargo, estos resultados varían de acuerdo a la ubicación geográfica y los tipos de grupos étnicos, tanto en pacientes con leucemia como en la población control (7).

En Venezuela, según el último boletín epidemiológico del cáncer del MSDS del año 2005 (19), el cáncer se encuentra dentro de las primeras cinco causas de mortalidad en ambos géneros ocupando la segunda posición con el 14,93%. Para ambos sexos las leucemias ocupan el sexto lugar de incidencia en cáncer, además, dentro de las diez primeras causas de mortalidad por cáncer, las leucemias ocupan el quinto lugar en hombres, con 422 (4,65%) individuos afectados y el séptimo lugar en mujeres, con 352 (2,88%) casos. Por otro lado, la incidencia anual de casos de cáncer en niños y jóvenes menores de 15 años es dominada por las leucemias (más de 600 casos anuales), representando el 40% para la fecha citada.

Siendo la leucemia una de las neoplasias que cursan con una incidencia importante tanto en la población infantil como adulta, surge la iniciativa de investigar la presencia y frecuencia de los polimorfismos genéticos de GSTM1 y GSTT1 en pacientes venezolanos diagnosticados con leucemia, para analizar si estos genotipos pueden ser considerados un factor de riesgo para el padecimiento de la enfermedad por los motivos antes expuestos.

Materiales y Métodos

Declaración de ética

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario de Caracas, y se llevó a cabo de acuerdo con los principios expresados en la Declaración de Helsinki, todos los sujetos participantes firmaron en términos de consentimiento después de haber sido informados sobre los objetivos del estudio.

Población de estudio

Pacientes

La muestra poblacional consistió en 102 pacientes de ambos sexos, de diferente edad y origen étnico con diagnóstico de leucemia. Dichos pacientes asistieron a la consulta en el Servicio de Hematología en el Hospital Universitario de Caracas (HUC).

- Criterios de inclusión: Fueron incluidos en el estudio pacientes con diagnóstico de cualquier tipo de leucemia en cualquier fase de la enfermedad, que se encontraban o no bajo un protocolo de tratamiento farmacológico para el momento de la toma de la muestra.
- Criterios de exclusión: Fueron excluidos del estudio individuos sanos e individuos con diagnóstico de otra patología diferente a la leucemia.

Controles

El grupo control consistió en 322 individuos voluntarios sanos de diferentes regiones y grupos étnicos de Venezuela. Todos los voluntarios no estaban relacionados.

Muestras

Se recolectaron 5 ml de sangre periférica a través de punción venosa en la región del antebrazo, utilizándose un tubo al vacío con EDTA como anticoagulante, en pacientes y controles. En algunos pacientes se recolectaron 1 ml de aspirado de médula ósea, obtenido por punción y extracción de sangre de la cresta ilíaca

postero-superior, bajo condiciones de asepsia y anestesia local. Posteriormente se realizó la extracción de ADN a partir de los glóbulos blancos por el método de Welsh y Bunce modificado (20).

Genotipificación

Fue realizado a través del método PCR-multiplex para detectar la presencia de genes GSTM1 y GSTT1, siguiendo el protocolo empleado por Arand et al.,(21). Para ello se utilizaron iniciadores a 20pmol μ l⁻¹ a fin de lograr la amplificación separada de los fragmentos genómicos de GSTM1, GSTT1 y otro par de iniciadores de albúmina (Alb) a 20pmol μ l⁻¹ (Promega, Madison, WI. USA) que fue usado como control interno positivo (Tabla 1). Las condiciones de PCR-multiplex fueron las siguientes, se preparó un stock de mezcla: buffer 1X (KCl, Tris-HCl, pH 8,4. Promega), 25 mM MgCl₂ (Promega), 10 mM dNTP's (Promega), iniciadores a 20pmol μ l⁻¹ (Promega), 1,5 μ l/ μ l Taq polymerase (Promega), agua destilada libre de nucleasas, 100 ng de ADN genómico, para obtener un volumen final de 50 μ l. Las condiciones de PCR-multiplex se llevó a cabo de acuerdo al siguiente protocolo: desnaturalización inicial de 94°C durante 5 minutos, luego se continuó con 35 ciclos a 94°C por 30 segundos de desnaturalización, 58°C por 45 segundos de alineación y 72°C por 30 segundos de elongación. El paso de elongación final se llevó a cabo a 72°C por otros 30 segundos, en un termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems).

Los productos de amplificación fueron corridos en una electroforesis en gel de agarosa 2%, a 150V por 20 minutos, se usó el marcador de peso molecular (ADN ladder) de 100 pb y fueron visualizados con luz UV en el equipo de foto documentación (Digi Doc-IT imaging system UVP) a través de la tinción con Bromuro de Etidio. Se clasificaron los genotipos observados M1+/T1+ (homocigoto normal), M1-/T1- (homocigoto doble nulo), M1+/T1- y M1-/T1+ (heterocigotos).

Análisis estadístico

Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas

TABLA 1. Secuencias de los iniciadores para amplificación de los genes GSTM1, GSTT1 y Alb.

Iniciadores	Secuencia	Tamaño
GSTM1 -F	5' GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 3'	215 pb
GSTM1 -R	5' GTTGGGCTCAAATATACGGTGG 3'	
GSTT1 -F	5' TTCCTTACTGGTCCTCAATCTC 3'	480 pb
GSTT1 -R	5' TCACCGGATCATGGCCAGCA 3'	
Alb - F	5' GCCCTCTGCTAACAAGTCCTAC 3'	350 pb
Alb- R	5' GCCCTAAAAAGAAAATCGCCAATC 3'	

por conteo directo. Se utilizó el test de Fisher para evaluar la asociación entre presencia y ausencia del alelo nulo en casos y controles. El riesgo relativo fue calculado por odds ratio (OR), considerando un IC de 95%.

Resultados

Los pacientes fueron clasificados en base al tipo de leucemia que padecen (Tabla 2), y de esta manera se procedió a determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de GSTM1 y GSTT1.

Los genotipos de GSTM1 y GSTT1 determinados en pacientes con leucemia se pueden observar en la figura 1, evidenciándose la presencia de genotipos M1+/T1+, M10/T1+ y M1+/T10.

Se obtuvieron las frecuencias alélicas y fenotípicas de GSTM1 y GSTT1 respectivamente, sin distinción del tipo de leucemia. Las frecuencias alélicas de GSTM1 en pacientes con leucemia fueron GSTM1+ 65.7% y GSTM1- (nulo) 34.3%, para GSTT1 fueron GSTT1+ 71.6% y GSTT1- (nulo) 28.4%, observándose un predominio de los alelos wild type con respecto a los alelos nulos. En la tabla 3 se representan las frecuencias de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 encontrados en pacientes con leucemia y controles, se puede apreciar que los genotipos nulos son menos frecuentes en ambos grupos. Se observó que la frecuencia de GSTT1 nulo en pacientes con leucemia es mayor en comparación con la población control, encontrándose una diferencia estadísticamente significativa (P value: 0.0039) y sugiriendo que este genotipo puede ser considerado un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia (OR: 2.1895, 95% IC: 1.285 – 3.7302).

TABLA 2. Distribución poblacional de pacientes según el tipo de leucemia en el HUC.

Tipo de Leucemia	Nro. de individuos (%)
LLA	51 (50%)
LLC	4 (4%)
LMA	25 (24%)
LMC	19 (19%)
Tricoleucemia	3 (3%)

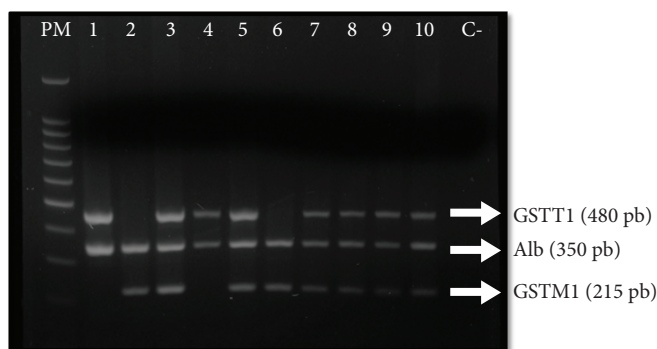


FIGURA 1. Electroforesis en gel de agarosa 2%, observándose diferentes genotipos obtenidos por PCR Multiplex para GSTM1 y GSTT1 en pacientes con leucemia: genotipo M1+/T1+ en las muestras 3,5,7,8,9 y 10. Genotipo M1-/T1+: muestras 1 y 4. Genotipo M1+/T1- : muestras 2 y 6. PM: marcador de tamaño molecular y C-: control negativo de la reacción.

La distribución de las frecuencias genotípicas de GSTM1 y GSTT1 encontradas en pacientes con leucemia y controles sanos se representa en la tabla 4,

TABLA 3. Distribución de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 en pacientes con leucemia y controles sanos.

Genotipo	Casos (n=102)	Controles (n= 322)	Odds Ratio (OR)	95% IC (intervalo de confianza)	P value
GSTM1 nulo	35 (34.3%)	132 (41%)	0.7519	0.4722 – 1.1973	0.2296
GSTT1 nulo	29 (28.4%)	48 (15%)	2.1895	1.2851 - 3.7302	0.0039*

*P<0.05

TABLA 4. Distribución de frecuencias genotípicas de GSTM1 y GSTT1 en pacientes con leucemia y controles sanos.

Genotipo	Casos (n=102)	Controles (n= 322)	Odds Ratio (OR)	95% IC (intervalo de confianza)	P value
GSTM1+/GSTT1+	48 (47.0%)	157 (49%)	1	-	-
GSTM1-/GSTT1+	25 (24.5%)	94 (29%)	0.8699	0.5035-1.5030	0.6174
GSTM1+/GSTT1-	19 (18.6%)	55 (17%)	1.1299	0.6117-2.0871	0.6964
GSTM1-/GSTT1-	10 (9.9%)	16 (5%)	2.0443	0.8705 4.8005	0.1007

observándose que presentan similitud entre ambos grupos estudiados. No se encontró asociación en las diferentes combinaciones de genotipos como factor de riesgo de padecer leucemia.

Se estimaron las frecuencias alélicas de los genotipos

TABLA 5. Distribución de frecuencias alélicas de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1 en base al tipo de leucemia de los casos estudiados.

Alelo	LLA	LLC	LMA	LMC	Tricoleucemia
GSTM1					
Nulo	41%	50%	36%	11%	25%
GSTT1					
Nulo	25%	25%	44%	21%	Nd

Nd: no se determinó.

nulos de GSTM1 y GSTT1 por cada tipo de leucemia, encontrándose que el genotipo nulo GSTM1 fue más frecuente en pacientes con LLA y LLC, y el genotipo nulo de GSTT1 es más frecuente en pacientes con LMA (tabla 5).

Discusión

La etiología de los tipos de cáncer que aparecen con más frecuencia no puede explicarse por la variabilidad alélica en un solo locus. En cambio, la mayor carga de cáncer en la población general probablemente es el resultado de la compleja interacción de múltiples factores genéticos y ambientales. La comprensión de la interacción de las exposiciones a xenobióticos, su metabolismo endógeno, y la variabilidad genética en múltiples loci facilitará el conocimiento sobre la etiología del cáncer y la identificación de las personas que están en mayor riesgo de desarrollar cáncer. Se han hecho intentos para estudiar diversos factores hereditarios que pueden predisponer al individuo a desarrollar un tipo particular de malignidad.

Diversos estudios de epidemiología molecular indican que los individuos que carecen de los genes GSTM1 y GSTT1 son más propensos a desarrollar cáncer que los que tienen estos genes (8). Esto está asociado porque una delección polimórfica de estos genes puede influir en la actividad de la enzima que codifican, y finalmente, una mayor vulnerabilidad al daño genotóxico (9, 16, 22).

Considerando estos postulados, se llevó a cabo este estudio para evaluar si los polimorfismos encontrados de los genes GSTM1 y GSTT1 de la superfamilia de glutatión S- transferasa podían considerarse un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia en individuos

venezolanos. Tomando en cuenta la alta heterogeneidad de los polimorfismos de GSTM1 y GSTT1 que ha sido reportada en estudios poblacionales clasificados por región geográfica y grupos étnicos en diferentes tipos de leucemia (4, 23, 24, 25, 26), es necesario el conocimiento de la presencia y la estimación de las frecuencias de estos polimorfismos en pacientes con leucemia venezolanos, debido a que la población actual de Venezuela es el producto de una población amerindia original la cual ha recibido genes europeos y africanos en distinta proporción, de acuerdo al área geográfica que se considere (27).

Los resultados obtenidos del genotipaje de GSTM1 en pacientes con leucemia mostraron para el alelo GSTM1 nulo, una frecuencia de 34.3% y 41% en controles, observándose que la delección de este alelo es más frecuente en la población control venezolana, y no se encontró una asociación de este alelo como factor de riesgo para el padecimiento de leucemia. GSTM1 nulo fue más frecuente en pacientes con LLA y LLC (41% y 50%, respectivamente), este hallazgo es semejante al encontrado en otros estudios (23), en el cual este genotipo es más frecuente en pacientes infantiles con LLA. Sin embargo, no es considerado como factor de riesgo para el desarrollo de LLA en los pacientes estudiados, en coincidencia con otros estudios (1, 10, 17, 28), así como para LMC (9) y LMA (29). Otros estudios si han determinado la asociación significativa del genotipo GSTM1 nulo como factor de riesgo incrementado para el desarrollo de leucemia, en pacientes con LLA del norte de Portugal (30), y otro estudio de meta-análisis de diferentes poblaciones asiáticas (12).

La determinación de polimorfismos de GSTT1 nulo en pacientes con leucemia analizados en este estudio arrojó un predominio estadísticamente significativo con respecto a los controles sanos (28.4% vs 15%), además indicó la existencia de riesgo relativo incrementado de este genotipo para el padecimiento de leucemia (OR= 2.1895, 95% IC= 1.2851 – 3.7302). De acuerdo a la distribución de GSTT1 nulo en los diferentes tipos de leucemias, se observó más frecuente en pacientes con LMA (44%). En otras poblaciones, estudios del genotipo GSTT1 nulo lo han considerado como factor de riesgo para el desarrollo de LMA en pacientes chinos (29), coincidiendo con los resultados obtenidos en este estudio. Así mismo, otras investigaciones han encontrado una asociación positiva considerando este genotipo GSTT1 nulo un factor de riesgo para el desarrollo de LMC (7, 9), en otros casos este genotipo no representa

un factor de riesgo para pacientes con LLA (1, 12, 28, 30), descartando su asociación en la leucemogénesis. Un estudio en leucemia aguda no linfocítica (LANL) encontraron que la presencia de GSTT1 nulo puede conferir protección, reduciendo el riesgo a padecer ese tipo de leucemia (10).

Los genotipos combinados de GSTM1 y GSTT1 se determinaron en pacientes y controles con el fin de conocer si existía una asociación considerada un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia. Los resultados obtenidos en este estudio no reflejaron una relación estadísticamente significativa con el padecimiento de la enfermedad, fueron similares entre ambos grupos estudiados, como se aprecia en la tabla 4. La asociación de genotipos GSTM1 y GSTT1 nulos combinados han sido considerados factor de riesgo para el desarrollo de LLA (9, 17) y para LMA (31).

La ausencia de las enzimas de glutación S-transferasa puede conducir a estrés oxidativo y daño al ADN, debido a la incapacidad de desintoxicación de compuestos electrofílicos, lo que resulta en la inestabilidad genómica, uno de los causantes del proceso de leucemogénesis (32). Por tanto, los genotipos GSTM1 y GSTT1 nulos traen como consecuencia la falta de actividad enzimática, relacionándolos causalmente en las neoplasias hematológicas (6). La deficiencia en actividad de las enzimas GST también puede resultar en niveles elevados de glutación, debido a la reducción del consumo del mismo. Esto, a su vez, podría afectar a la proliferación celular y la apoptosis. Por ejemplo, la inhibición de la apoptosis y el aumento de proliferación de los linfocitos T podría resultar de niveles elevados de glutación (11).

Cabe destacar la importancia adicional del conocimiento de la presencia de los polimorfismos de GSTM1 y GSTT1 nulos en leucemia, es la relación de estos con pronósticos de evolución y respuesta a los fármacos de los protocolos de tratamiento. Las formas activas de GSTM1 y GSTT1 son necesarias para una protección óptima del sistema hematopoyético contra tóxicos ambientales que pudieran inducir el desarrollo de leucemia.

Los tipos de leucemias con mayores frecuencias de genotipos nulos de GSTM1 y GSTT1, fueron LLA, LLC y LMA, esto resulta interesante debido a que algunos fármacos administrados en los protocolos de quimioterapia son metabolizados por estas enzimas, sugiriendo una posible susceptibilidad de presentar eventos desfavorables en cuanto a la respuesta

farmacológica; sin embargo, se requiere la ampliación de la población de estudio para establecer esta asociación.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación permitieron conocer la susceptibilidad incrementada a desarrollar leucemia debido a la presencia del polimorfismo genético GSTT1 nulo en la población venezolana. Dado el número de polimorfismos, la complejidad de la exposición a los carcinógenos químicos, y la variabilidad en la expresión y la diversidad de las enzimas implicadas en su metabolismo, los resultados presentados representan un primer paso en nuestro esfuerzo por comprender los factores genéticos que condicionen la susceptibilidad de padecer leucemia en la población venezolana.

Financiamiento

FONACIT MC-2007001066, MC- 2008001053, PEII-2012001275, CDCH-UCV PI 0987122013.

Agradecimiento

Se le agradece a todo el personal que labora en el Servicio de Hematología en el Hospital Universitario de Caracas por la colaboración prestada.

Referencias

1. Chen CL, Liu Q, Pui CH, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro R, et al. Higher frequency of glutathione S-transferase deletions in black children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1997; 89:1701-1707.
2. Stanulla M, Schrappe M, Brechlin A M, Zimmermann M, Welte K. Polymorphisms within glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and risk of relapse in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: a case-control study. *Blood* 2000; 95(4):1222-1228.
3. Mannervik B, Awasthi YC, Board PG, Hayes JD, Di Ilio C, Ketterer B and Pearson WR. Nomenclature for human glutathione transferases. *Biochem J* 1992; 282(Pt 1):305-306.
4. Bolufer P, Barragan E, Collado M, Cervera J, López J-A, Sanz M a. Influence of genetic polymorphisms on the risk of developing leukemia and on disease progression. *Leuk Res* 2006; 30(12):1471-1491.
5. Weiss JR, Kopecky KJ, Godwin J, Anderson J, Willman CL, Moysich KB, et al. Glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1 and GSTA1) polymorphisms and outcomes after treatment for acute myeloid leukemia: pharmacogenetics in Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trials. *Leukemia* 2006; 20(12): 2169-2171.
6. Voso MT, D'Alo' F, Putzulu R, Mele L, Scardocci A, Chiusolo P, et al. Negative prognostic value of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) deletions in adult

- acute myeloid leukemia. *Blood* 2002;100(8):2703–2707.
7. Bajpai P, Tripathi AK, Agrawal D. Increased frequencies of glutathione-S-transferase (GSTM1 and GSTT1) null genotypes in Indian patients with chronic myeloid leukemia. *Leuk Res* 2007;31(10):1359–1363.
 8. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6(9): 733–743.
 9. He H, Zhang X, Sun J, Hu S, Ma Y, Dong Y, et al. Glutathione S-transferase gene polymorphisms and susceptibility to chronic myeloid leukemia. *Tumour Biol* 2014; 35(6): 6119–6125.
 10. Balta G, Yuksek N, Ozyurek E, Ertem U, Hicsonmez G, Altay C, et al. Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia. *Am J Hematol* 2003; 73(3):154–160.
 11. Özten N, Sunguroğlu A, Bosland MC. Variations in glutathione-S-transferase genes influence risk of chronic myeloid leukemia. *Hematol Oncol* 2012;30(3):150–155.
 12. Tang Q, Li J, Zhang S, Yuan B, Sun H, Wu D, et al. GSTM1 and GSTT1 null polymorphisms and childhood acute leukemia risk: evidence from 26 case-control studies. *PLoS One* 2013;8(10):e78810. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0078810>. [consultado en: 15 abril 2014].
 13. Taspinar M, Aydos S, Comez O, Ah E, Hg K, Sunguroglu A. CYP1A1, GST gene polymorphisms and risk of chronic myeloid leukaemia. *Swiss Medical Weekly* 2008; 138(1-2):12-17.
 14. J. Sans-Sabrafen, C. Besses Raebel JLVC. *Hematología Clínica*. Elsevier, editor. 2006.
 15. Wang J, Zhang L, Feng J, Wang H, Zhu S, Hu Y, et al. Genetic polymorphisms analysis of glutathione S-transferase M1 and T1 in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2004; 24(3):243–244.
 16. Sinnott D, Krajcinovic M and Labuda D. Genetic Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia & Lymphoma 2000; 38(514):447-462.
 17. Canalle R, Burim R V, Tone LG, Takahashi CS. Genetic polymorphisms and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environ Mol Mutagen* 2004; 43(2):100–109.
 18. Yuille M, Condie A, Hudson C, Kote-jarai Z, Stone E, Eeles R, et al. Brief report Relationship between glutathione S-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 99(11):4216–4218.
 19. Capote Negrin Luis G. Aspectos epidemiológicos del cáncer en Venezuela. *Rev Venez Oncol* 2006; 18(4):269-281
 20. Welsh K, Bunce M. Molecular typing for the MHC with PCR-SSP. *Rev Immunogenet* 1999;1:157–176.
 21. Arand M, Mühlbauer R, Hengstler J, Jäger E, Fuchs J, Winkler L, et al. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. *Anal Biochem* 1996; 236 (1): 184–186.
 22. Gao L-B, Pan X-M, Li L-J, Liang W-B, Bai P, Rao L, et al. Null genotypes of GSTM1 and GSTT1 contribute to risk of cervical neoplasia: an evidence-based meta-analysis. *PLoS One* 2011;6(5):e20157. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0020157>. [consultado en: 3 mayo 2014].
 23. Karathanasis N V, Choumerianou DM, Kalmanti M. Gene Polymorphisms in Childhood ALL. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 52:318–323.
 24. Vijaykrishnan J, Houlston RS. Candidate gene association studies and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica* 2010; 95(8):1405–1414.
 25. Zintzaras E. Glutathione S-transferase M1 and T1 genes and susceptibility to chronic myeloid leukemia: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2009; 13(6):791–797.
 26. Das P, Shaik AP, Bammidi VK, Deqd. Meta-analysis study of glutathione -S- transferases (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) gene polymorphisms and risk of acute myeloid leukemia. *Leukemia & Lymphoma* 2009; 50:1345–1351.
 27. Larralde ÁR, Guerra DC De, Coira MG, Morales J, Rodríguez-larralde Á, Guerra DCDE, et al. Frecuencia génica y porcentaje de mezcla en diferentes áreas geográficas de Venezuela, de acuerdo a los grupos RH y ABO. *Interciencia* 2001; 26(1):8-12.
 28. Davies SM, Bhatia S, Ross J a, Kiffmeyer WR, Gaynon PS, Radloff G a, et al. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility, and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 100(1):67–71.
 29. Zhou L, Zhu Y-Y, Zhang X-D, Li Y, Liu Z-G. Risk effects of GST gene polymorphisms in patients with acute myeloid leukemia: a prospective study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(6):3861–3864.
 30. Alves S, Amorim A, Ferreira F, Norton L and Prata MJ. The GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and susceptibility to acute lymphoblastic leukemia in children from north Portugal. *Leukemia* 2002; 16(8):1565-1567.
 31. Arruda VR, Lima CS, Grignoli CR, de Melo MB, Lorand-Metze I, Alberto FL, et al. Increased risk for acute myeloid leukaemia in individuals with glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) and theta 1 (GSTT1) gene defects. *Eur J Haematol* 2001; 66(6):383-388.
 32. Dunna NR, Vure S, Sailaja K, Surekha D, Raghunadharao D, Rajappa S, et al. Deletion of GSTM1 and T1 genes as a risk factor for development of acute leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(4):2221–2224.

PREMIO PARA ESTUDIANTES DE BIOANÁLISIS “PROFESORA FRANCA BILLI” 2014 BIOMARCADORES SEROLÓGICOS EN EL INMUNODIAGNÓSTICO DE LA CONDICIÓN CELÍACA

Lenitza González¹, María Fátima Garcés¹, Mercedes Fernández², Josefa Villasmil¹.

¹Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela,

²Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

Recibido para publicación el 10 de septiembre 2014. Aprobado para publicación el 30 noviembre 2014.

RESUMEN:

La condición celíaca es una enteropatía multisistémica inducida por el gluten de la dieta, con afectación variable del epitelio intestinal y amplio espectro clínico. *Objetivo:* Evaluar la utilidad diagnóstica, sensibilidad y especificidad de nuevos biomarcadores serológicos para el diagnóstico de la condición celíaca. *Materiales y Métodos:* Se realizó determinación serológica de anticuerpos IgA/IgG anti-gliadina y anti-DPG por ELISA y determinación de IgA total por inmunodifusión radial. Se estudiaron 84 pacientes celíacos previamente diagnosticados con edades entre 11 meses y 48 años; 19 familiares en primer grado de consanguinidad de los pacientes celíacos y 37 individuos aparentemente sanos (grupo control). *Resultados:* La especificidad IgA e IgG anti-gliadina fue del 76% con una sensibilidad de 36% para IgA y 63% para IgG. La sensibilidad y especificidad de IgA anti-DPG fue de 18% y 92% respectivamente. Para IgG anti-DPG la sensibilidad fue de 29% y la especificidad de 95%. No se encontraron diferencias significativas al comparar los valores de IgA anti-gliadina de pacientes y controles. Resultados significativos se obtuvieron al comparar valores de IgG anti-gliadina entre pacientes y controles. Con respecto a IgA e IgG anti-DPG no se hallaron diferencias significativas. Se observó una prevalencia de 87,5% (14/16) de familiares de primer grado de consanguinidad de pacientes celíacos con al menos una prueba positiva del perfil celíaco, en su mayoría para anticuerpos anti-DPG. *Conclusión:* Este estudio sugiere que los anticuerpos IgG anti-gliadina e IgG anti-DPG representan biomarcadores diagnósticos de la condición celíaca.

Palabras claves: Condición celíaca, inmunodiagnóstico, anticuerpos anti-DPG IgA/IgG, anticuerpos anti-gliadina IgA/IgG.

SEROLOGICAL BIOMARKERS FOR IMMUNODIAGNOSIS OF CELIAC DISEASE

SUMMARY

Celiac condition is a multisystem enteropathy induced by gluten from the diet, with variable involvement of the intestinal epithelium and broad clinical spectrum. *Objective:* To evaluate the diagnostic utility, sensitivity and specificity of new serological biomarkers for the diagnosis of celiac condition. *Materials and Methods:* serological determination of anti-gliadin IgA / IgG and anti-DPG was performed by ELISA and determination of total IgA by radial immunodiffusion. A number of 84 patients with celiac disease previously diagnosed among ages of 11 months and 48 years old were studied; 19 first-degree relatives of celiac consanguinity and 37 apparently healthy individuals (control group). *Results:* The specificity anti-gliadin IgA and IgG was 76% with a sensitivity of 36% to IgA and 63% for IgG. The sensitivity and specificity of anti-DPG IgA was 18% and 92% respectively. For anti-DPG IgG sensitivity was 29% and specificity of 95%. No significant differences were founded when comparing the values of anti-gliadin IgA on patients and controls. Significant results were obtained by comparing values of anti-gliadin IgG between patients and controls. Regarding to anti-DPG IgA and IgG no significant differences were found. There was a prevalence of 87.5% (14/16) relatives of the first-degree of consanguinity of celiac patients with at least one positive test for celiac profile, mostly for antibodies anti-DPG. *Conclusion:* This study suggests that anti-gliadin IgG and anti-DPG IgG antibodies represent biomarkers diagnoses of celiac condition.

Key words: Celiac condition, immunodiagnostic; anti-DPG IgA/IgG antibodies; anti-gliadin IgA/IgG antibodies.

Introducción

La enfermedad celíaca (EC) o también conocida como condición celíaca o celiacía, es una enteropatía, caracterizada por una respuesta inflamatoria crónica que se desencadena en individuos genéticamente susceptibles al ingerir gluten, específicamente a una de sus proteínas constituyentes encontradas en el trigo, la cebada, el centeno y la avena, denominadas

gliadina, hordeína, secalina y avenina, respectivamente (1). Su causa es multifactorial y los factores genéticos, ambientales y dietéticos tienen una significación importante en su aparición. Se ha demostrado que la EC se presenta principalmente en pacientes que están genéticamente predisuestos, es decir presentan los alelos que codifican las moléculas HLA-DQ2/DQ8 (2). La expresión de los alelos HLA-DQ2 o HLA-DQ8 está

Solicitar copia a: Josefa Villasmil (e-mail: jomavillas10@hotmail.com)

asociada a un mayor riesgo a desarrollar la EC (3, 4). La EC tiene una amplia gama de presentaciones clínicas, que van desde pacientes asintomáticos, sintomáticos típicos que cursan con alteraciones gastrointestinales como diarreas, estreñimiento, distensión abdominal, reflujos, etc; hasta individuos con sintomatología atípica como anemia, dermatitis herpetiforme, osteoporosis, abortos recurrentes, trastornos neurológicos y otros sin variaciones en el tracto digestivo. La principal complicación clínica que presentan estos pacientes es una lesión intestinal con atrofia vellositaria, hiperplasia de las criptas e infiltrado celular inflamatorio (5,6). Como consecuencia se produce la inadecuada absorción de los nutrientes con repercusiones clínicas y funcionales variables dependiendo de la edad y condición del paciente (1,7,8,9). En las últimas décadas la epidemiología de la EC ha sido replanteada. Esta enteropatía tiene una incidencia del 0,5-1% en la mayoría de los países, aumentando en algunos países europeos (5,10). La EC afecta tanto a niños como a adultos y la relación mujer/varón es de 2:1 (11).

Estudios recientes comparan la epidemiología de la EC con un iceberg, donde solo la punta del mismo son los casos diagnosticados por su sintomatología típica, y la profundidad del iceberg es el resto de los individuos afectados que pasan inadvertidos, pues no tienen una sintomatología clara o no la poseen (12). Entre las dificultades para confirmar el diagnóstico, se mencionan: casos asintomáticos, mala praxis médica al confundir esta condición con otra patología con sintomatología similar, la gran cantidad de exámenes que se le deben realizar al paciente, entre ellos, biopsia de duodeno/yeyuno que es la prueba diagnóstica confirmatoria. Esta última, es un método invasivo que anteriormente debía ser repetido tres veces en caso de que el resultado de la primera muestra mostrara alteraciones histológicas en la mucosa intestinal compatibles con el diagnóstico de EC (12,13).

En Venezuela la incidencia de esta condición probablemente sea similar al resto del mundo, sin embargo, los datos estadísticos posiblemente no están acorde con la realidad, debido al sub-registro que existe de los casos clínicamente diagnosticados como otras patologías. Estudios recientes sugieren una importante prevalencia de esta condición en el país, siendo necesario ampliar estas investigaciones (14). En 1990 el comité de expertos de la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (ESPGHAN, por sus siglas en inglés), propone realizar al paciente solamente una biopsia para confirmar el diagnóstico y otra al

año para monitorear el progreso de la EC. Así mismo, este comité plantea que las biopsias sólo se realizarán en caso de pacientes con un perfil serológico positivo previamente establecido (15). En 2012, la ESPGHAN en una nueva guía expone que la serología constituye una herramienta fundamental para el diagnóstico de la EC, y considera que deberían ser las primeras pruebas a realizar en pacientes con sintomatología clínica previo a la biopsia intestinal (16).

El perfil serológico incluye la determinación de anticuerpos anti-gliadina (AAG) IgA e IgG; anticuerpos anti-transglutaminasa tisular (AtTG) IgA e IgG, anticuerpos anti-endomisio (EMA), los cuales se consideran marcadores inmunológicos asociados a la EC. Actualmente, se ha demostrado que la utilidad diagnóstica de estos marcadores tienen sus limitaciones, entre estas se menciona la baja sensibilidad de los AAG de tipo IgA, que va de 75-95%, obteniendo así, una gran cantidad de resultados falsos negativos, y los de tipo IgG con baja especificidad dando elevados falsos positivos pues se detectan también en otras patologías intestinales (17). De acuerdo a las recientes investigaciones que han evaluado la sensibilidad y especificidad de estos marcadores séricos, algunos autores proponen realizar pruebas más específicas, como la investigación de anticuerpos anti-péptidos deaminados de gliadina (anti-DPG) IgA e IgG. Investigaciones recientes han revelado que la transglutaminasa tisular (tTG) desamina los péptidos de gliadina que atraviesan el borde de la mucosa de los pacientes celíacos, lo que los convierte en mucho más inmunogénicos que los péptidos de gliadina sin procesar. Por lo tanto, los péptidos de gliadina desaminados representan blancos más específicas para los anticuerpos anti-gliadina que se producen en los pacientes celíacos. Las pruebas para determinar anti-DPG han mostrado tener una alta sensibilidad y especificidad que en conjunto con otros marcadores, como los nombrados anteriormente y podrían representar mayores ventajas para apoyar un diagnóstico presuntivo de EC; sugerir el momento que se debe realizar la biopsia intestinal y monitorear el cumplimiento de una dieta exenta de gluten (18).

El objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad, sensibilidad y especificidad de los biomarcadores serológicos IgA-IgG anti-gliadina y los recientemente descritos anticuerpos IgA e IgG anti-DPG, como prueba diagnóstica y de seguimiento en pacientes asintomáticos y sintomáticos típicos con EC.

Materiales y Métodos

Población y muestra: se evaluaron 140 muestras de suero, las cuales fueron divididas en tres grupos: a) 84 muestras provenientes de pacientes con diagnóstico clínico de EC en edades comprendida entre 11 meses y 48 años. Estas muestras fueron evaluadas por medio de la determinación de anticuerpos IgG e IgA específicos del perfil celíaco; con estudio de alelos HLA por técnicas de Biología Molecular y mediante estudios histológicos en biopsia de duodeno/yejuno; b) 19 muestras provenientes de familiares en primer grado de consanguinidad de los pacientes (padres, madres y hermanos). Las muestras de pacientes y familiares relacionados fueron gentilmente donadas por el Laboratorio de Fisiopatología del Centro de Medicina Experimental en el Instituto Venezolano de Investigaciones científicas (IVIC) y; c) 37 muestras obtenidas de individuos aparentemente sanos (grupo control), comparables en edad y sexo provenientes de la comunidad universitaria que asistieron voluntariamente al Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Cátedra de Bioquímica, de la Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela. Las muestras de sangre del grupo control se tomaron por punción venosa (5 mL-7mL) del antebrazo previa asepsia, utilizando tubos vacutainer sin anticoagulante. Las muestras de sangre total permanecieron a temperatura ambiente por 30 min hasta la retracción del coagulo, se centrifugaron a 3.500 rpm, se separaron los sueros en tres alícuotas y se conservaron a -20°C hasta ser procesadas en los diferentes ensayos. A todas las muestras objeto del estudio se les realizó determinación de IgA e IgG anti-gliadina e IgA e IgG anti-DPG por ELISA. Se realizó adicionalmente la determinación de IgA total a 45 pacientes celíacos a objeto de valorar este parámetro y discutir sobre la posible asociación con una deficiencia selectiva de IgA en esta condición, como ha sido descrito por otros autores.

Determinación de anticuerpos IgA-IgG anti-gliadina: fueron determinados en pruebas separadas con el estuche comercial QUANTA Lite™ Gliadin IgG o IgA

ELISA indirecto (INOVA diagnostics, Inc. United States of America) para detectar anticuerpos contra antígeno de gliadina purificado. El punto de corte (cut-off) establecido por la casa comercial fue de 20U/mL, considerando muestras positivas débil aquellas que presentaron un valor entre las 20-30 U/mL y positivas fuertes a valores mayor o igual a 30U/mL ($\geq 30\text{U/mL}$) y negativas con resultados menores a 20U/mL ($\leq 20\text{U/mL}$).

Determinación de anticuerpos IgA e IgG anti-DPG: fueron determinados en pruebas separadas por ELISA indirecto, con el estuche comercial ORG 551G Anti-DPG (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Mainz-Germany) para detectar anticuerpos frente a proteínas de gliadina deaminada. El punto de corte (cut-off) establecido por la casa comercial fue de 10U/mL, considerando muestras positivas aquellas que presentaron un valor mayor o igual a 10U/mL ($\geq 10\text{U/mL}$) y negativas con resultados menores a 10U/mL ($\leq 10\text{U/mL}$).

Determinación de IgA total: la determinación de IgA total se realizó por medio de la técnica de inmunodifusión radial, con un estuche comercial IgA RID (LTA s.r.l. Milano, Italy). Los valores de referencia para esta prueba son de 90-450 mg/dL.

Análisis estadístico: se determinaron los parámetros estadísticos, Media (\bar{x}), mediana (Md), Moda (Mo), Error estándar (ES), Riesgo Relativo (RR) Odds Ratio (OR), valores mínimos y valores máximos, sensibilidad y especificidad diagnóstica e intervalo de confianza (CI) de 95%, con la finalidad de evaluar el comportamiento de los marcadores serológicos descritos en el grupo de pacientes y grupo control. Estos datos fueron calculados por el programa www.umbeuc.d/utilidades_herramientas.html. Para tomar en cuenta todas las poblaciones en estudio, lo cual presenta la ventaja de detectar diferencias significativas más pequeñas y de incluir la variabilidad total de universo estudiado se realizó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) con el empleo del programa Sigma Plot estableciendo

TABLA 1. Sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo IgA anti-gliadina.

IgA anti-GLIADINA	n=84		n=37		SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
	PACIENTES		CONTROLES					
+/n	30/84	35,71%	9/37	24,32%	36%		77%	
-/n	54/84	64,28%	28/37	75,68%		76%		34%

RR: 1,47 IC 95% (0,78-2,278)

VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, RR: Riesgo relativo

un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Resultados

Sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo IgA anti-gliadina.

En la tabla 1 se muestra que de los 84 pacientes con condición celíaca 30 (35.71%) dieron positivos para IgA anti-gliadina y 9 individuos del grupo control (24,32%) resultaron positivos para esta prueba. Se obtuvo resultados negativos en 54 (64,28%) de los pacientes y 28 (75,68%) de los controles. La sensibilidad diagnóstica del ensayo fue de 36% y la especificidad diagnóstica fue de 76%. El valor predictivo positivo y negativo obtenido fue de 77% y 34% respectivamente con un riesgo relativo de 1,47 y un CI (0,78-2,278).

Sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo IgG anti-gliadina.

La tabla 2 muestra que 53 (63,09%) pacientes con condición celíaca fueron positivos para IgG anti-gliadina y 9 individuos del grupo control (24,32%) resultaron positivos. Así también, 31 (36,91%) de los pacientes y 28 (75,68%) de los controles fueron negativos en esta evaluación. La sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo fue de 63% y 76% respectivamente. Se obtuvo un valor predictivo positivo de 85%; un valor predictivo negativo del 47% y un riesgo relativo de 2,59 con un CI (1,44 - 4,49).

Sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo IgA anti-DPG.

En la tabla 3 se muestra que para IgA anti-DPG 15 (17,85%) pacientes y 3 (8,10%) del grupo control resultaron positivos. Asimismo, 69 (82,14%) de los pacientes y 34 (91,89%) de los controles fueron negativos para este marcador. De esta forma, la sensibilidad diagnóstica del ensayo fue de 18% y la especificidad

TABLA 2. Sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo IgG anti-gliadina.

IgG anti-GLIADINA	n=84		n=37		SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
	PACIENTES		CONTROLES					
+/n	53/84	63,09%	9/37	24,32%	63%		85%	
-/n	31/84	36,91%	28/37	75,68%		76%		47%
RR: 2,59 IC 95% (1,44-4,49)								

VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, RR: Riesgo relativo

TABLA 3. Sensibilidad y especificidad diagnóstica de IgA anti-DPG.

IgA anti-DPG	n=84		n=37		SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
	PACIENTES		CONTROLES					
+/n	15/84	17,85%	3/37	8,10%	18%		83%	
-/n	69/84	82,14%	34/37	91,89%		92%		33%
RR: 2,2 CI (0,68-7,15)								

VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, RR: Riesgo relativo

TABLA 4. Sensibilidad y especificidad diagnóstica de IgG anti-DPG.

IgG anti-DPG	n=84		n=37		SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
	PACIENTES		CONTROLES					
+/n	24/84	28,57%	2/37	5,40%	29%		92%	
-/n	60/84	71,42%	35/37	94,59%		95%		37%
RR: 2,2 CI(0,68-7,15)								

n: muestra, VPP: valor predictivo positivo, VPN: valor predictivo negativo, RR: Riesgo relativo

diagóstica fue de 92%. En esta prueba el valor predictivo positivo y negativo fue de 83% y 33% respectivamente, con un riesgo relativo de 2,2 con un CI (0,68-7,15).

Sensibilidad y especificidad diagnóstica del ensayo IgG anti-DPG

La tabla 4 muestra los resultados para IgG anti-DPG. Encontramos que 24 (28,57%) pacientes con condición celíaca y 2 (5,40%) fueron positivos para este marcador. Así también 60 (71,42%) de los pacientes y 35 (94,59%) de los controles fueron negativos para este anticuerpo. Se obtuvo una sensibilidad y especificidad diagnóstica de 29% y 95% respectivamente. Obteniéndose, además, un valor predictivo positivo de 92% y valor predictivo negativo del 37% con un riesgo relativo de 2,2 con un CI (0,68-7,15).

Al analizar los resultados de los valores obtenidos para las concentraciones IgA e IgG anti-gliadina y anti-DPG

entre pacientes y controles, no se encontraron diferencias significativas para IgA anti-gliadina e IgA/IgG anti-DPG en el grupo de estudio (datos no mostrados). Únicamente se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) al comparar los valores de la concentración de IgG anti-gliadina en los pacientes y los controles (Tabla 5). Los valores fueron expresados como Media (\bar{x}) y Error estándar (ES),

Determinación de IgA total en pacientes celíacos.

Se realizó la determinación de IgA total en 45 pacientes celíacos, quienes resultaron IgA anti-DPG e IgA anti-gliadina negativos. De los 45 pacientes, 4 (8,8%) presentaron una concentración de IgA por debajo de los valores de referencia, mientras que la mayoría de los pacientes (91,2%) mostraron resultados normales (Tabla 6).

Determinación de IgA e IgG anti-gliadina y anti-DPG en

TABLA 5. Relación de los valores de IgG anti-gliadina de pacientes y controles.

Marcador sérico	PACIENTES n= 84	CONTROLES n= 37	p
IgG anti-GLIADINA (Valor de referencia 20-30 U/mL)	69,79±9,66	16,42±3,57	0,001***

Valores expresados como $\bar{x} \pm ES$

*** $p < 0,001$ prueba de análisis de varianza (ANOVA).

TABLA 6. Determinación de IgA total en pacientes celíacos.

IgA Total (Valor de referencia 90-450 mg/ml)	+/n	%
Pacientes celíacos con valores bajos de IgA	4/45	8,8
Pacientes celíacos con valores normales de IgA	41/45	91,2

TABLA 7. IgA e IgG anti-gliadina y anti-DPG en familiares de individuos celíacos.

Marcador sérico	19 FAMILIARES			
	+/n	%	-/n	%
IgA anti-GLIADINA	6/19	31,57%	13/19	68,43%
IgG anti-GLIADINA	9/19	47,37%	10/19	52,63%
IgA anti-DPG	6/19	31,57%	13/19	68,43%
IgG anti-DPG	4/19	21,1%	15/19	78,90%

familiares de individuos celíacos.

En la tabla 7 se muestra que 6 (31,57%) de los familiares estudiados resultaron positivos para IgA anti-gliadina y 13 (68,43%) fueron negativos. Con respecto a la IgG anti-gliadina se detectaron 9 (47,37%) positivos y 10 (52,63%) con resultados negativos. Con respecto a los anticuerpos IgA anti-DPG, 6 (31,57%) de los familiares estudiados resultaron positivos y 13 (68,43%) negativos. Para IgG anti-DPG, 4 (21,1%) de los familiares fueron positivos y 15 (78,9%) negativos.

Discusión

Los avances de la última década y el desarrollo de pruebas de detección precisas han dado un impulso notable al diagnóstico precoz no invasivo de la EC. Diversas investigaciones han evaluado la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas del perfil celíaco para lograr mejores resultados en términos de costo-beneficio para el paciente. En este trabajo se estudiaron anticuerpos IgA e IgG anti-gliadina y anti-DPG para evaluar sus ventajas como pruebas diagnósticas al utilizarlos en conjunto con otros marcadores serológicos

de la EC. La especificidad diagnóstica para IgA e IgG anti-gliadina obtenida fue del 76% en ambos casos (Tablas 1 y 2), comparable con la de otros estudios, los cuales reportan una especificidad del 80% para IgA y de 75% para IgG (19). En cuanto a la sensibilidad de esta prueba se encontraron valores bajos para la IgA e IgG. Esto podría deberse en parte, que la mayoría de los pacientes se encontraban en dieta libre de gluten de 6 meses a 5 años, lo cual de acuerdo a la literatura, contribuye a disminuir o negativizar los valores para este ensayo. La gliadina es el antígeno encontrado en el gluten y por el cual se desencadena la respuesta de anticuerpos, si este antígeno es eliminado de la dieta los anticuerpos disminuyen, principalmente los de la clase IgA pues son de fase aguda, en tanto se obtendría mayor sensibilidad para los valores de IgG pues esta inmunoglobulina demuestra la respuesta inmunitaria de memoria e indica que el paciente tuvo una reacción previa a la gliadina que permanecerá por cierto tiempo en circulación (19).

Algunos autores han reportado que la baja sensibilidad también podría deberse a que dentro de este grupo se encuentren pacientes celíacos latentes, los cuales, aún siendo celíacos no necesariamente resultan positivos en las pruebas serológicas indicadas para el diagnóstico de EC (20). Los anticuerpos anti-gliadina han sido estimados como una herramienta serológica útil en el diagnóstico de EC, no obstante, se ha comprobado que no son específicos. De acuerdo a estudios recientes, dichos valores podrían deberse a que estos anticuerpos pueden hallarse en otras condiciones clínicas, como es el caso de la sensibilidad al gluten sin poseer la EC (21); enfermedades no gastrointestinales e incluso en individuos sanos con una dieta rica en gluten (22, 23).

Los anticuerpos anti-DPG se consideran una prueba específica para el diagnóstico de EC y para el seguimiento de pacientes con dieta libre de gluten. En el presente estudio obtuvimos una especificidad del ensayo para IgA e IgG de 92 y 95% respectivamente (Tabla 3 y 4), lo cual es comparable con otras investigaciones que reportan una especificidad con rangos de 97 a 99% (21, 24). En cuanto a la sensibilidad para estos marcadores séricos encontramos valores por debajo de los valores de referencia lo cual podría atribuirse al cumplimiento de una dieta libre de gluten en los pacientes como lo mencionamos anteriormente. Así también, se obtuvo un VPP mayor al 80% tanto para la IgA como IgG anti-DPG, esto indica una alta probabilidad de tener la condición celíaca si se obtiene un resultado positivo para este marcador, estos resultados son comparables a los obtenidos por otros autores. Al respecto Sugai y

col, en 2006 (25), realizaron un estudio prospectivo, investigando los anticuerpos anti-DPG en pacientes con diagnóstico de EC y los resultados de ese estudio muestran que la sensibilidad y especificidad de las pruebas para anti-DPG IgA e IgG fueron superiores al 90%. Así también, Rashtak y col, 2008 (26), compararon la determinación de anticuerpos anti-DPG con la de anticuerpos anti-AtTG y anti-gliadina para establecer su importancia en el diagnóstico clínico de la EC, analizando muestras de pacientes celíacos tratados y no tratados. Sus resultados muestran que la sensibilidad, especificidad y exactitud de los anticuerpos IgA e IgG anti-DPG, en conjunto, fueron superiores a los de anticuerpos anti-gliadina IgA e IgG y similares a los anticuerpos anti-AtTG antes del tratamiento de EC.

Se ha reportado que individuos con deficiencia de IgA tienen 10-15 veces un riesgo incrementado de desarrollar EC y estos sujetos no son detectados por serología convencional de IgA. La presentación clínica general de EC no difiere entre pacientes deficientes de IgA y otros pacientes, sin embargo, una sobreexpresión de síntomas atípicos y silentes han sido observados entre pacientes deficientes de IgA (27, 28, 29). Por lo tanto, es importante y recomendable solicitar la valoración de IgA total junto a las pruebas específicas del perfil serológico para el diagnóstico de EC. En este estudio se determinaron valores de IgA total en los pacientes celíacos que resultaron negativos para IgA anti-gliadina y anti-DPG. Se detectó un 8% de los pacientes celíacos con valores de IgA total por muy por debajo de los valores de referencia (Tabla 5). Estos resultados son comparables a lo descrito por otros autores (30) y sugieren que la detección de valores bajos de IgA pudiesen estar asociados a la deficiencia selectiva de este anticuerpo, sin embargo, es necesario incrementar la data y realizar otras pruebas clínicas y diagnósticas que pudieran avalar tal presunción.

La prevalencia de la condición celíaca en los familiares de primer grado de pacientes celíacos oscila, entre 5 a 13%, siendo mayor en los familiares que comparten los mismos alelos de riesgo (HLA). Al analizar los resultados de las pruebas del perfil celíaco realizadas a un grupo de familiares en primer grado de los pacientes con condición celíaca, se obtuvo 14 individuos con por lo menos una prueba serológica positiva, de los cuales 10 resultaron positivos para anticuerpos anti-DPG. Estos resultados son comparables a los obtenidos por Landaeta y col en el 2009 (31), quienes realizaron un estudio de prevalencia en 16 familiares celíacos obteniendo valores similares, sin embargo, para tener conclusiones más precisas se requiere realizar estudios adicionales

incrementando el número individuos a evaluar. La exactitud diagnóstica de la serología para la EC ha aumentado progresivamente con el desarrollo de pruebas de alta precisión, tales como la detección de anticuerpos IgA anti- AtTG, anti-EMA y anticuerpos IgG anti-DPG. El uso rutinario de estos marcadores serológicos ha permitido a los investigadores diagnosticar un número considerable de casos subclínicos que se caracterizan por serología positiva y biopsias intestinales normales o con lesiones leves. En conjunto, los resultados obtenidos en esta investigación sugieren que la determinación de anticuerpos anti-gliadina y anti-DPG son pruebas útiles para hacer un diagnóstico diferencial entre individuos verdaderos celíacos e individuos potenciales celíacos, parte oculta del iceberg de la EC.

Agradecimientos

El proyecto fue financiado parcialmente por la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina. Agradecemos a la casa comercial Corpodiagnostica C.A.

Referencias

- López M. Mecanismos de tolerancia inmune en la condición celíaca. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 2009;1-134.
- Torres S. Genetic base of celiac diseases in diagnosis. Revista cubana de Medicina. 2012; 51:170-182.
- Liu J, Juo SH, Holopainen P, Terwilliger J, Tong X, Grunn A y col. Genomewide linkage analysis of celiac disease in Finnish families. Am J Hum Genet 2002; 70: 51-59.
- Dubois PC, Trynka G, Franke L, Hunt KA, Romanos J, Curtotti A y col. Multiple common variants for celiac disease influencing immune gene expression. Nat Genet 2010; 42:295-302
- Alaadini A, Green PH. Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. Ann Intern Med 2005;142(4):289-298.
- Robins G. Howdle PD Advances in celiac disease. Curr Opin Gastroenterol 2005; 21(2):152-161.
- Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S y col. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. J Pediatric Gastroenterol Nutr 2005;40:1-19.
- National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on Celiac Disease. Gastroenterology 2005;128:1-9.
- Niederhofer H, Pittschieler K. A preliminary investigation of ADHD symptoms in persons with celiac disease. J Atten Discord . 2006;10:200-204
- Lohi S, Mustalahti K, Kaukinen K, Laurila K, Collin P, Rissanen H y col.. Increasing prevalence of coeliac disease over time. Aliment Pharmacol Ther 2007; 26: 1217-1225.
- Casellas F, Lopez Vivancos J, Malagelada JR. Current epidemiology and accessibility to diet compliance in adult celiac disease. Rev Esp Enferm Dig 2006;98(6):408-419.
- Logan, RF. Descriptive Epidemiology of Celiac Disease. In: Branski D, Rozen P, Kagnof MF Editors Gluten-Sensitive Enteropathy. Basel:Karger. 1992:1-14
- Visakorpi, J. K. Definition of coeliac disease in children. In: Hekkens WTJM, Pena AS Editors Coeliac Disease: Proceedings of the Second International Coeliac Symposium, Noordwijkerhout, The Netherlands. Stenfert Kroese, Leiden; 1974:10-16.
- Fabiano F, Lista D, Torres J, Urquiola A. Primer estudio de prevalencia de la condición celíaca en Venezuela. Revista Gen 2013; 67: 203-207
- Report of working group of European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. Revised criteria for diagnosis of celiac disease. Arch Dis Chil 1990;65:909-911.
- Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó R, Mearin M, Phillips A, Shamir R y col. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition Guidelines for the Diagnosis of Coeliac Disease. JPGN 2012;54(1):136-160
- Rostom A, Dubé C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garrity C y col. The diagnostic accuracy of serologic tests for celiac disease: a systematic review. Gastroenterology 2005;128(4):S38-S46.
- Volta U, Granito A, Parisi C, Fabbri A, Fiorini E, Piscaglia M y col. Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease: a prospective analysis. J Clin Gastroenterol 2010; 44: 186-190
- Caja S, Mäki M, Kaukinen K, Lindfors K. Antibodies in celiac disease: implications beyond diagnostics. Cell Mol Immunol. 2011;8:103-109
- Miranda D M, Alonso R L, De Castro O M, Millán J A. Enfermedad celíaca: nuevos criterios diagnósticos. Vox Paediatrica 2012; XIX(2):28-33
- Volta C., Villanacci U. Celiac disease: diagnostic criteria in progress. Cell Mol Immunol 2011;8:96-102.
- Katz J, Kantor FS, Herskovic T. Intestinal antibodies to wheat fractions in celiac disease. Ann Intern Med. 1968;69(6):1149-1153.
- Skerritt JH, Johnson RB, Hetzel PA, et al. Variation of serum and intestinal gluten antibody specificities in coeliac disease. Clin Exp Immunol. 1987; 68(1):189-199.
- Fabiano F, Lista D, Torres J, Urquiola A. Sensibilidad y especificidad de los marcadores serológicos para diagnóstico y seguimiento de la condición celíaca. Gen 2014; 68:8-11
- Sugai E, Vázquez H, Nachman F, Moreno M, Mazure M, Smecuol E y col. Accuracy of testing for Antibodies to

- Synthetic Gliadin-Related Peptides in Celiac Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1112-1117.
26. Rashtak S, Ettore M W, Homburger H, and Murray J A. Comparative usefulness of deamidated gliadin antibodies in the diagnosis of celiac disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:426-432
27. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease: an Italian multicentre study. Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) and "Club del Tenue" Working Groups on Coeliac Disease. *Gut* 1998;42:362-365.
28. Collin, P. New diagnostic findings in coeliac disease. *Ann Med* 1999; 31:399-405
29. Korponay-Szabo IR, Dahlbom I, Laurila K, Koskinen S, Woolley N, Partanen J y col. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut* 2003; 52:1567-1571
30. Meini A, Pillan NM, Villanacci V, Monafó V, Ugazio AG, Plebani A. Prevalence and diagnosis of celiac disease in IgA-deficient children. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996;77:333-336.
31. Landaeta N, Rodríguez M, Fernández A, Padrón A, Arredondo C. Screening Para Condición Celíaca en Familiares de Primer Grado de Niños Celíacos. *Gen* 2009;63:108-110

PREMIO AL MEJOR TRABAJO LIBRE (CARTEL)
HONGOS FILAMENTOSOS PATÓGENOS Y EMERGENTES EN EL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA DEL INSTITUTO MÉDICO LA FLORESTA CARACAS-VENEZUELA

Xiomara Moreno¹, Gustavo Martínez¹, Carolina Macero¹

¹Departamento de Microbiología. Instituto Médico la Floresta

Recibido para publicación el 15 noviembre 2014. Aprobado para publicación el 15 diciembre 2014.

RESUMEN:

Los hongos filamentosos patógenos verdaderos junto con los hongos filamentosos emergentes que se comportan como contaminantes ambientales han pasado a ser causantes de infecciones invasoras o sistémicas, asociándose a una alta tasa de mortalidad, por lo que se pretende determinar la frecuencia de hongos filamentosos, patógenos y emergentes en el departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta. Se realizó un estudio retrospectivo y transversal de este tipo de hongos durante 9 años. Se utilizó el examen directo como indicador de positividad en las muestras analizadas, los medios utilizados para el crecimiento fueron agar sabouraud, agar sabouraud más gentamicina, agar mycosel, agar papa dextrosa, posteriormente examen directo para definir las características morfológicas compatibles de cada hongo. Se identificaron 104 especies. El mayor aislamiento fue para *Histoplasma capsulatum* (23), seguido de *Aspergillus* spp. (21), *Fusarium* spp. (17), complejo *Paracoccidioides brasiliensis* (15), entre otros. Con el advenimiento de nuevas patologías como el VIH, enfermedades neoplásicas, enfermedades autoinmunes y la exposición en zonas endémicas, se hace indispensable identificar hasta especie este tipo de hongos para contribuir en el tratamiento de la terapia antifúngica adecuada, además de incrementar la data epidemiológica como aporte al sistema de salud pública.

Palabras claves: Hongos filamentosos, examen directo, epidemiología.

FILAMENTOUS FUNGI AND EMERGING PATHOGENS IN THE DEPARTMENT OF MICROBIOLOGY MEDICAL INSTITUTE FLOREST. CARACAS-VENEZUELA

SUMMARY

True pathogenic filamentous fungi with emerging filamentous fungi behave as environmental pollutants have become invasive or cause systemic infections, associated to a high mortality rate, which is intended to determine the frequency of filamentous fungi, pathogens and emerging in the Department of Microbiology Medical Institute Florest. A retrospective cross-sectional study of this type of fungi was performed for nine years. Direct examination was used as an indicator of positivity in the samples analyzed, the cultures media used for growth were sabouraud agar, sabouraud agar + gentamicin, mycosel agar, potato dextrose agar, then direct examination to define consistent morphological characteristics of each fungus. 104 species were identified. The greater isolation was for *Histoplasma capsulatum*(23), followed by *Aspergillus* spp. (21), *Fusarium* spp. (17), *Paracoccidioides brasiliensis* complex (15), among others. With the advent of new diseases such as HIV, neoplastic diseases, autoimmune diseases and exposure in endemic areas need to be identified to species such fungi to help in the treatment of appropriate antifungal therapy, and increase the epidemiological data as contribution to the public health system.

Key words: Filamentous fungi, direct examination, epidemiology.

Introducción

Los hongos filamentosos catalogados como patógenos verdaderos junto con los hongos filamentosos emergentes que se comportan como contaminantes ambientales, han pasado a ser causantes de infecciones invasoras o sistémicas, asociándose a una alta tasa de morbimortalidad. Estos sucesos pueden estar asociados a la dificultad en hacer un diagnóstico precoz, tratamiento ineficaz, toxicidad e interacción de algunos antifúngicos con otras drogas, desconocimiento de

la profilaxis antifúngica y disminución del sistema inmunosupresor que acarrea pérdida del injerto (1). Tradicionalmente se observaba que los hongos con características levaduriformes eran los causantes de enfermedades superficiales, subcutáneas e infecciones fúngicas invasoras, pero en los últimos años hay un ascenso de infecciones producidas por hongos filamentosos que pueden ir desde especies de *Aspergillus* hasta especies de los géneros *Mucor*, *Rhizopus*, así como agentes etiológicos dimorfotermales como *Histoplasma*

Solicitar copia a: Xiomara Moreno Calderón (e-mail: x.morenoc@hotmail.com)

capsulatum (*H. capsulatum*) (2,3). Esta nueva epidemiología cambiante de los hongos está causando preocupación en el ámbito clínico debido al tipo de pacientes con factores de riesgo y la escasa alternativa terapéutica con que se dispone para su tratamiento. Debido a estos cambios epidemiológicos en los agentes causantes de infecciones fúngicas nos planteamos determinar la frecuencia de hongos filamentosos, patógenos y emergentes en el departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal y descriptivo de este tipo de hongos durante 9 años en la sección de Micología del Dpto. de Microbiología del Instituto Médico la Floresta. Caracas-Venezuela.

Se utilizó el examen directo (hidróxido de potasio al 10% con tinta parker y coloración de Giemsa) como indicador de positividad en las muestras. Este tipo de examen se tomó como patrón patognomónico en todas las historias revisadas y muestras analizadas para cerciorarnos de que el agente aislado era causal de infección y no un contaminante.

Los medios utilizados para obtener su crecimiento fueron agar sabouraud, agar sabouraud más gentamicina, agar mycosel y agar papa dextrosa; se incubaron a 35°C, otros fueron incubados a temperatura ambiente dependiendo de la impresión diagnóstica aportada por el clínico, sobre todo con sospecha de hongos dimorfotermales. Los cultivos fueron observados de manera periódica durante 4 semanas y, hasta dos semanas más para los dimorfotermales para poder observar el crecimiento del hongo en su máxima esporulación. Una vez obtenido su desarrollo, se realizó nuevamente examen directo con azul de Cotton para observar las estructuras fúngicas compatibles con el hongo causante de la infección. Los que no se pudieron identificar con exactitud se les hizo la técnica de microcultivo en agar papa (4) para conseguir el desarrollo de las estructuras características y así determinar el género y especie correspondiente siguiendo las claves de identificación para este tipo de hongos (5).

Para el análisis descriptivo y estadístico se elaboró una base de datos en Excel, para el cálculo de porcentajes y medidas de tendencia central.

Resultados

Ciento cuatro aislados de hongos filamentosos fueron identificados en un periodo de 9 años (2006-

2014), todos presentaron examen directo positivo, cumpliendo con el criterio de inclusión establecido. Los aislados obtenidos en esta investigación provienen de la categorización de los pacientes en: pacientes oncológicos 25 (24%), pacientes con virus de inmunodeficiencia humana (VIH) 9 (8.7%) y pacientes no cáncer y no VIH 70 (67.3%), en estos pacientes se incluyen pacientes con diabetes, traumatismos, consumidores de esteroides por otro tipo de enfermedad diferente cáncer y VIH, enfermedades autoinmunes, enfermedad broncopulmonar obstructiva crónica (EBOC), pacientes con un determinado oficio y provenientes de áreas endémicas del país. La media de edad del total de pacientes fue de 66,9 años, con un rango de edad que va de 5 a 84 años

El tipo de muestra con la cantidad de aislados de agentes fúngicos causantes de infección se detallan en la tabla 1. El hongo más comúnmente identificado fue *H. capsulatum* con 23 aislados, seguido de *Aspergillus* spp., con 21 aislados, los cuales observamos en el gráfico 1; los aislados de *Aspergillus* spp. provenientes de muestras respiratorias se procesaron por triplicado para verificar la presencia del hongo y descartar contaminación. En tercer lugar se presenta *Fusarium* spp., con 17 aislados, 12 pertenecen a complejo *F. solani* de los cuales 5 provienen de úlceras corneales, 1 de muestra respiratoria la cual se evaluó de la misma manera que en *Aspergillus* y las restantes provenían de secreciones y abscesos. 4 aislados pertenecían al complejo *F. oxysporum*, uno de ellos aislado de úlcera corneal y 3 de heridas y lesiones. Finalmente 1 aislado de *F. chlamydosporum* proveniente de un pie diabético (Tabla 1). La sintomatología y los hallazgos radiológicos de la fusariosis son indistinguibles de la AI, presentan una alta tasa de resistencia a los antifúngicos disponibles. Su aislamiento de hemocultivos puede alcanzar un 60% lo que predice un diagnóstico de fusariosis (6). Seguidamente se presenta complejo *Paracoccidioides* que involucra las especies *brasiliensis* y *lutzii* (complejo *P. brasiliensis*) (7) con 15 aislados de pacientes provenientes de lugares demográficamente definidos como reservaria de este hongo, bien sea con estadía permanente o casual. Los demás aislados son hongos que habitan en el medio y que debido a las diversas condiciones inmunológicas del paciente o antecedentes de traumatismos se están convirtiendo en causantes de infecciones fúngicas, confiriendo mal pronóstico y adquiriendo relevancia importante en el ámbito clínico (8).

TABLA 1. Aislamientos de hongos filamentosos y dimórficos de acuerdo a su lugar de procedencia.

Hongo Filamentoso	Médula Ósea	Sangre	Secreción Respiratoria	Úlcera Corneal	Sec. Ótica	Secreción y Tejidos	Total	Enfermedad de Base Cáncer	VIH	No Cáncer/No VIH
<i>H. capsulatum</i>	15	2				6	23	8	9	6
<i>Aspergillus</i> spp.	1		13	2	4	1	21	7		14
<i>Fusarium</i> spp.			1	4		12	17	2		15
<i>P. brasiliensis</i>			10			5	15			15
<i>Curvularia</i> spp.				4		4	8	1		7
<i>Scytalidium</i> spp.			3		1	4			4	
<i>Penicillium</i> spp.			2	2			4	2		2
<i>A. alternata</i>			1			1	2			2
<i>S. schenckii</i>						3	3			3
<i>S. apiospermum</i>						2	2			2
<i>A. kiliense</i>	1	1					2	2		
<i>R. arrhizus</i>						1	1	1		
<i>N. brasiliensis</i>	1						1	1		
<i>Scopulariosis</i> spp.					1		1	1		
Total	18	3	27	15	5	36	104	25	9	70

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana. *Aspergillus* spp.: *A. grupo Fumigati*, *A. grupo Nigri*, *A. grupo Flavi*, *A. grupo Terrei*. *Fusarium* spp.: Complejo *F. solani*, Complejo *F. oxysporum*. *F. chlamydosporum*. *Paracoccidioides brasiliensis*. *Scytalidium* spp.: *Neoscytalidium dimidiatum*, *Scytalidium hyalinum*. *Alternaria alternata*. Complejo *Sporothrix schenckii*. *Scedosporium apiospermum*. *Acremonium kiliense*, *Rhizopus arrhizus*, *Nocardia brasiliensis*.

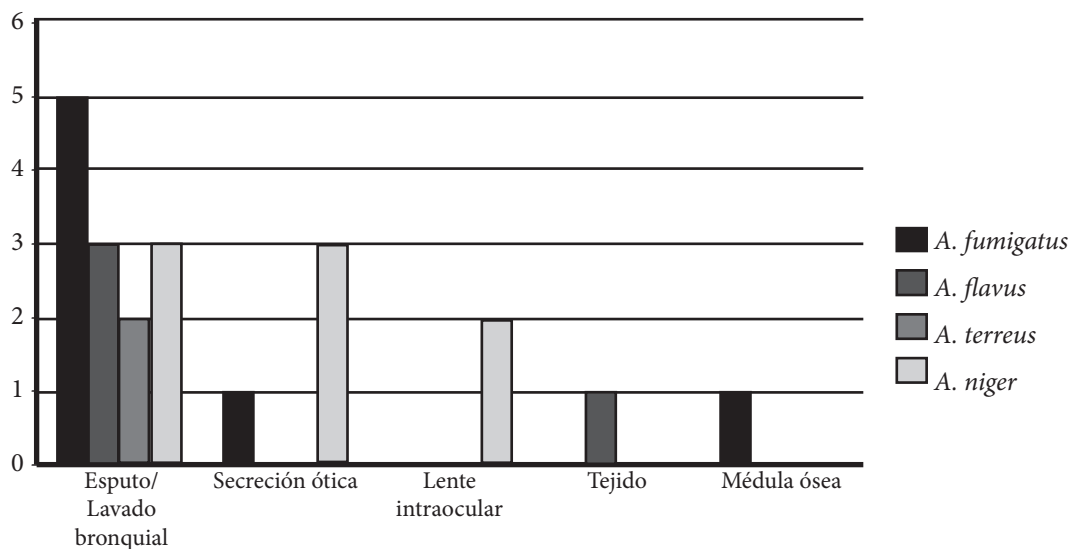


FIGURA 1. Número de aislados de *Aspergillus* spp. provenientes de diferentes tipos de muestra.

Discusión

En las últimas tres décadas, existen investigaciones que reportan una incidencia de infecciones invasivas por agentes fúngico en pacientes particularmente con algún compromiso inmunológico, resaltando la variación en la epidemiología de las micosis, donde nuevos patógenos considerados contaminantes o colonizantes se incrementan. También se observa especies de hongos filamentosos con resistencia intrínseca o adquirida por lo que se relaciona con falla terapéutica aumentando las tasas de mortalidad en estos pacientes (6, 9), por lo que se hace necesario llegar hasta especie en la identificación de este tipo de hongos.

Es importante destacar que las micosis profundas sistémicas y las oportunistas no se contagian de persona a persona, se adquieren por vía endógena y vía inhalatoria. Todo va a depender de la condición inmune del paciente, si es inmunocompetente la infección se autolimita pero si el paciente tiene un sistema inmunocomprometido desarrollará la enfermedad (10,11).

La histoplasmosis es una micosis sistémica mundial, cuyo dimorfismo es considerado un factor de virulencia, su implantación va a depender del estado inmune del paciente, la edad y la cantidad de inóculo (12). Las formas diseminadas agudas son vistas en pacientes con una deficiencia extrema de la celularidad como; leucemia, linfoma y especialmente en los pacientes con VIH/SIDA (10,12). En Venezuela la histoplasmosis es la más frecuente en pacientes con VIH/SIDA, en nuestra investigación es el hongo más comúnmente aislado 23 (22.12%), datos que se relacionan con estudios epidemiológicos reportados en la literatura nacional e internacional (13, 14,15), su distribución por enfermedad de base la vemos en la tabla 1.

La aspergilosis puede presentarse desde cuadros alérgicos hasta aspergilosis invasora (AI,) de acuerdo al estado inmunológico del paciente. Las personas con predisposición a presentar una AI son pacientes con neutropenia prolongada, VIH avanzado, trasplantados de progenitores hematopoyéticos o trasplantados de pulmón (2,3). El aumento de aislamientos de *Aspergillus* spp. pareciera relacionarse con la profilaxis con fluconazol el cual activaría la expresión de ciertos genes que aumentarían su virulencia (6). El aumento de otras especies de *Aspergillus* diferentes a *A. grupo Fumigati* es cada vez más frecuente, como es el caso de *A. grupo Terrei*, a pesar de que sigue siendo infrecuente su aislamiento, en algunos estudios se ha conseguido en un 20% de las infecciones por hongos filamentosos (14), datos que se relacionan con nuestra investigación

donde se consiguieron 2 aislamientos. De igual manera en nuestro estudio *A. grupo Fumigati* fue el más aislado como causante AI, correspondiéndose con los hallazgos reportados por la literatura internacional (16,17).

Las especies de *Aspergillus* no son las únicas causantes de hialohifomicosis, también encontramos a *Fusarium* spp. que aunque es aún poco frecuente puede causar infecciones muy severas en los pacientes inmunocomprometidos y lo convierte en el segundo hongo filamentosos causante de enfermedad invasora en pacientes hematológicos y trasplantados de órganos sólidos (3,16,18), en nuestra investigación encontramos 2 aislados del complejo *Fusarium solani* (complejo *F. solani*) en pacientes oncológicos con tumores sólidos, uno causando neumonía y el otro causando lesiones cutáneas, resultados que se relacionan con los de otros investigadores (19). Los demás aislados de *Fusarium* spp. se observan en la tabla 1. *Scedosporium apiospermum* (*S. apiosmermun*) es otros hongo productor de hialohifomicosis que va en aumento como causante de infecciones micóticas, se ha descrito como el segundo hongo filamentosos colonizador de las vías respiratorias bajas después de *A. grupo Fumigati*. La aspiración de aguas contaminadas también es otra vía de contaminación (3, 20). En la presente investigación se identificaron 2 aislados de *S. apiospermum*, 1 proveniente de una incrustación en el pie de una niña por una astilla de árbol, y otro de un drenaje pulmonar cuyo paciente trabajaba en cavas de refrigeración, ambos eran pacientes inmunocompetentes. Otro hongo ambiental causante de hialohifomicosis es *Penicillium* spp., específicamente *Penicillium marneffeii* (*P. marneffeii*), ocasionalmente causa infección en humanos, ha sido aislado de pacientes con queratitis (post-traumática), endoftalmítis, otomicosis, esofagítis necrotizante, neumonía, endocarditis, peritonitis e infecciones urinarias. La mayoría de estas infecciones ocurren en individuos inmunocomprometidos (21). En nuestro trabajo pudimos aislar 2 *Penicillium* spp. causando neumonías en pacientes oncológicos y 2 provenientes de úlceras corneales, pero no se determinó la especie. *P. marneffeii* infecta específicamente paciente con SIDA, no-SIDA, enfermedades hematológicas y pacientes con tratamientos inmunosupresores (8).

La paracoccidiodomicosis, es la micosis endémica más frecuente en pacientes no VIH, a la vez es exclusiva de Latinoamérica concretamente en el sur. En Venezuela hasta los momentos solo existe la especie de *P. brasiliensis* (7). El pulmón es el órgano más comúnmente afectado en más de un 70% de los casos (14), estos criterios se relaciona con nuestros hallazgos

donde obtuvimos 10 aislados del tracto respiratorio en muestras de esputo y lavados broncoalveolares los cuales provenían de pacientes residenciados en el estado Miranda y el estado Vargas, lugares endémicos para este hongo dimórfico (22), algunos eran agricultores, otros trabajo de oficina y amas de casa. La media de edad en los hombres fue de 65,1 y en las mujeres de 61,1 con un rango general de edad de 31 a 80 años. La relación entre hombres y mujeres que presentaron la enfermedad a nivel pulmonar y diseminada fue de 1:1 (8 hombres: 7 mujeres), resultados que no se relacionan con investigaciones nacionales e internacionales los cuales reportan relaciones 6:1(18), 6,5:1(19) y 10:1 (20); resultados que pudieran deberse al escaso número de pacientes investigados. Las mujeres parecen estar protegidos de la enfermedad pero no de la infección, probablemente debido a la supresión de estrógenos que afecta su estado inmunológico razón por la cual la edad de las mujeres en nuestro estudio haya tenido relevancia en la adquisición de la enfermedad (14).

Otra especie de hongo que se comporta de forma endémica como la especie de *P. brasiliensis* es el complejo *Sporothrix schenckii* (*S. schenckii*), pero esta micosis subcutánea está difundida por todo el mundo, citamos al sur de África, Japón, Australia, Brasil, Perú, México, Colombia, Uruguay y Guatemala donde se han presentado epidemias (26). En Venezuela este tipo de hongo está restringido a algunos estados como Monagas, Carabobo, Lara, Aragua específicamente la Colonia Tovar que es zona endémica (22), nuestros aislados no provenían de estas localidades, pero si habían tenido contacto con espinas de flores y árboles.

Las infecciones por feohifomicosis son características de hongos pigmentados o dematiaceos, que aún no se encuentran clínicamente definidos, pero su número aumenta progresivamente con el reporte de casos clínicos aislados (19), en nuestro estudio encontramos 4 aislados de *Curvularia* spp., provenientes de úlceras corneales y 4 aislados en lesiones y abscesos cutáneos relacionados con traumatismos provenientes de individuos inmunocompetentes. También se aislaron 2 casos de *Alternaria alternata* (*A. alternata*): 1 de vías respiratorias bajas causando cuadro alérgico y otro de una lesión en piel por traumatismo; casos que se relacionan con lo descrito por la literatura donde en individuos inmunocompetentes estos hongos causan infecciones cutáneas y subcutáneas relacionadas con traumatismos (19). En individuos inmunosuprimidos pueden causar infecciones sistémicas, asociadas a infecciones de piel y tejidos blandos, causando mortalidad hasta un 79%

a pesar de la resección quirúrgica y el tratamiento prolongado con anfotericina B (6).

Estudios epidemiológicos sobre infecciones causadas por *Scitalidium dimidiatum* (*S. dimidiatum*), actualmente denominado *Neoscytalidium dimidiatum* (*N. dimidiatum*) y *Scitalidium hyalinum* (*S. hyalinum*) forma mutante hialina de *N. dimidiatum*; son casi inexistentes, la mayoría de los informes se limitan a la presentación de casos clínicos (27, 28). La presentación clínica es inespecífica e indistinguible de las infecciones causadas por hongos dermatofíticos (29). La infección más común en humanos es por transmisión geofílica observándose en los espacios interdigitales, plantas y uñas de los pies, rara vez en plantas y uñas de las manos (28). En nuestro estudio se aislaron 3 casos *N. dimidiatum* provenientes de úlceras corneales causando endoftalmitis y 1 un aislado de *S. hyalinum* de una lesión en piel. Se han informado casos de infecciones subcutáneas, osteomielitis, endoftalmitis, artritis y algunas de ellas en pacientes inmunodeprimidos, en estos pacientes puede resultar una puerta de entrada para una infección diseminada (30).

Otros tipos de hongos filamentosos menos comunes a los mencionados cuya presentación clínica puede ser afectación de piel y tejidos blandos, sistema nervioso central, compromiso pulmonar y fungemias, encontramos 5 aislados provenientes de pacientes oncológicos, a pesar de que son aislados en menor proporción son causantes de infecciones severas, datos que coinciden con otros investigadores (3, 18,19), ver resultados con más detalle en la tabla 1.

Conclusiones

Los factores de riesgo alteran el funcionamiento del sistema inmunológico, y a pesar de los grandes avances de diagnóstico y terapéutica cada vez está en ascenso una morbimortalidad casi inadmisibles por este tipo de hongos. Pacientes con traumatismos severos, pacientes con VIH, pacientes bajo tratamiento antineoplásico o los que van a ser sometidos a trasplantes de órganos o células hematopoyéticas, la coexistencia de enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus, pacientes en unidades de cuidados intensivos adultos y neonatos; además de recibir nutrición parenteral, antibióticos de amplio espectro, la presencia de catéteres y el tiempo de hospitalización, son factores que hacen al paciente susceptible a desarrollar una enfermedad fúngica por este tipo de hongos filamentosos capaces de producir una alta mortalidad. De ahí la importancia

en identificar hasta especie este tipo de hongos, a pesar de que determinadas especies estén agrupadas dentro de un complejo, además de que algunas especies de este tipo de hongos son intrínsecamente resistentes a anfotericina B. De esta manera contribuimos con la terapia antifúngica, la cual es bastante compleja. Esta investigación acerca de este tipo de hongos proveniente de un centro asistencial privado donde la mayoría de pacientes que acuden son oncológicos, además de VIH y otras patologías clínicas, permite evaluar la frecuencia con que estos aislados son responsables de infecciones fúngicas, y de esta manera hacer un aporte significativo a la epidemiología local y nacional de este tipo de hongos.

Referencias

- Pemán, J. Salavert, M. Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongo Filamentosos y levaduras. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2013; 31(5):328-341.
- Quindós, G. Candidiasis, aspergilosis y otras micosis invasoras en receptores de trasplante de órgano sólido. *Rev Iberoam Micol* 2011;28(3):110-119.
- Nucci M, Anaissie E, Queiroz-Telles F, Tobón A, Restrepo A, and Colombo A. Epidemiology of Opportunistic Fungal Infections in Latin America. *Clin Infect Dis* 2010; 51(5):561-570.
- Arenas R. *Micología Médica Ilustrada*. 4ª. Ed. McGraw-Hill-Interamericana, México, DF, 2011.
- Manual Práctico. I Curso Internacional de Micología Médica. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". 2006.
- Castón J, Rivero A, Torre-Cisneron J. Espectro y factores de riesgo de la infección fúngica invasora. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2007;34:467-476.
- Cordeiro R, Texeira M, Soares M, Dos Santos K, Ribolla P, San-Blas G, Bagagli E. Genus Paracoccidioides: Species Recognition and Biogeographic Aspect. *Plos One* 2012;7(5):e37694. Revisado en internet el 25 de octubre de 2014. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0037694>
- García-Ruiz JC, Amutio E, Pontón J. Infección fúngica invasora en pacientes inmunodeficientes. *Rev Iberoam Micol* 2004;21:55-52.
- Chavez J, Rivas P, Cortés J, Cuervo S, Sánchez R, Parra C. Sensibilidad in vitro de hongos miceliales de aislamientos clínicos en pacientes con cáncer en el Instituto Nacional de Cancerología ESE. *Infectio* 2010;14(S2):S116-S126.
- Kauffman CA. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:115-132.
- Wheat JL. Histoplasmosis: review for clinicians from nonendemic areas. *Mycoses* 2006;49:274-282.
- Restrepo A. Histoplasmosis. En: Restrepo A, Robledo J, Leiderman E, Restrepo M, Botero D, Bedoya V. *Enfermedades Infecciosas* 6ª edición. Medellín: fondo Editorial CIB;2003.P.316-326.
- Mata-Essayag S, Colella MT, Roselló A, de Capriles CH, Landaeta ME, de Salazar CP, Magaldi S, Olairola C, Calatroni MI, Garrido L. Histoplasmosis: a study of 158 cases in Venezuela, 2000-2005. *Medicina (Baltimore)* 2008;87(4):193-202.
- Colombo, A. L., Tobón, A., Restrepo, A., Queiroz-Telles, F, Nucci M. Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. *Med Mycol* 2011;49(8):785-798.
- Tobón ÁM. Epidemiología de la histoplasmosis en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. Simposio Las micosis endémicas y oportunistas en pacientes con VIH. *Biomédica* 2011;31(3):3-315.
- Carvalho-Dias VM, Santos CB, Arns da Cunha C, Shimakura S, Pasquini R and Queiroz-Telles F. Invasive Aspergillosis in Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients: A Retrospective Analysis. *The Brazil J Infect Dis* 2008;12(5):385-389.
- Hayes GE, Denning DW. Frequency, diagnosis and management of fungal respiratory infections. *Curr Opin Pulm Med* 2013;19(3):259-265
- Sampathkumer P, Paya CV. Fusarium Infection after solid-organ transplantation. *Clin Infect Dis* 2001;32:1237-1240.
- Cuenca-Estrella M, Berenguer J. Infecciones por *Fusarium* y *Scedosporium*. Otras hialohifomicosis y feohifomicosis. En: Ausina Ruiz V, Moreno Guillén S, editores. *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. 1ª ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2006. p.653-63.
- Guarro J, Serda KA, Horrre R, Rodríguez-Tudela JL, Cuenca-Estrella M, et al. *Scedosporium apiospermum*: changing clinical spectrum of a therapy-refractory opportunist. *Med Mycol*. 2006;44:295-327.
- Serrat C, Magraner J, Guna J, Domínguez V, Guerrero A, Borrás R. *Penicillium marneffei* y Peniciliosis. SEIMC2010, revisado el 16 de octubre de 2014. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/.../Pmarneff.pd>.
- Martínez D, Hernández R, Alvarado P, Mendoza M. Las micosis en Venezuela: casuística de los Grupos de Trabajo en Micología (1984-2010). *Rev Iberoam Micol* 2013;30(1):39-46.
- Olivero R, Domínguez A, Sánchez C, Di-Liberti D. Diagnóstico de paracoccidioidomicosis en el Laboratorio de Micología de la Universidad de Carabobo durante 14 años (1992-2005). *Rev Soc Ven Microbiol* 2007;27(1):3-10.

24. Dawaher J, Colella MT, Roselló A, Pérez C, Olaizola C, Newman W, Landaeta ME, Rangel L y M Sofia. Paracoccidioidomycosis: clínica, epidemiología y tratamiento. *Kasmera* 2012;40(2):160-171.
25. Alencar S, Barros D, Lastória J, Pires R, Alencar M. Paracoccidioidomycosis: Frequency, Morphology, and Pathogenesis of Tegumentary Lesions. *An Bras Dermatol* 2007;82(4):411-417.
26. Bonifaz Alexandro. *Micología Médica Básica*. Editores, S.A. McGraw-Hill Interamericana, México, 2010.
27. Guarro Josep. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enferm Infec Microbiol Clin* 2012;30(1):33-39.
28. Madrid H, Ruíz-Cendoya M, Cano J, et al. Genotyping and in vitro antifungal susceptibility of *Neoscytalidium dimidiatum* isolates from different origins. *Int J Antimicrob Agents* 2009;34:351-354.
29. Machouart M, Menir P, Helenon R, Quist D, Desbois N. *Scytalidium* and scytalidiosis: What's new in 2012? *J Micol Med* 2013;23(1):40-46.
30. Escobar M, Carmona J. Lesiones ungueales y cutáneas por *Scytalidium dimidiatum* en Medellín (Colombia), 1990-1999. Presentación de 128 casos y revisión del problema del nombre del agente. *Latreia* 2000;13(3):140-150.

EVALUACIÓN DE ESTRÉS ACADÉMICO, CORTISOL SÉRICO Y ACTIVIDAD DE α -AMILASA SALIVAL EN ESTUDIANTES DE BIOANÁLISIS DE LA UCV

Matilde Medina-Martel¹, Engelbert Jiménez², Isis Bello², Fariel Casadiegos³, Marlene Briceño³

¹ Profesora de la Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

² Licenciados en Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

³ Laboratorio Ambulatorio Docente Asistencial del Hospital Clínico Universitario.

Recibido para publicación el 2 noviembre 2014. Aprobado para publicación el 30 noviembre 2014.

RESUMEN:

Los estudiantes de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela manifiestan con frecuencia que la carrera es muy estresante. Sin embargo, el estrés académico no ha sido estudiado en esta Escuela. El cortisol es considerado un biomarcador clásico de estrés y se ha reportado que la α -amilasa salival podría ser un buen marcador de estrés agudo en humanos, ya que su secreción salival se incrementa por estimulación simpática. *Objetivos:* evaluar estrés académico, cortisol sérico y α -amilasa salival en estudiantes de los semestres 4to y 8vo de esta Escuela. *Materiales y métodos:* se aplicó el Cuestionario de Evaluación de Estrés Académico (De Pablo y col, 2004) para evaluar la intensidad y frecuencia con la cual los estudiantes perciben 18 estresores académicos. Se determinó cortisol sérico y α -amilasa salival en muestras de sangre y de saliva respectivamente, recolectadas 4 (día A) o 6 días (día A+) antes de un parcial teórico, el día del parcial (día B) y 4 días posteriores al mismo (día C) entre las 7:00 y 8:00 a.m. *Resultados:* la intensidad de estrés académico fue similar entre ambos semestres aunque la frecuencia de exposición fue mayor en el 8vo semestre. 4to semestre: no se observaron cambios significativos en la concentración de cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival entre los días evaluados. 8vo semestre: el cortisol disminuyó en el día C respecto a los días A y B, sin variaciones en la α -amilasa. *Conclusiones:* la mayor frecuencia de exposición observada en el 8vo semestre podría estar asociada a una mejor respuesta adaptativa al estrés experimentado durante la época de exámenes. En relación a la α -amilasa salival aún falta mucho por investigar respecto a la hora ideal para la toma de la muestra, así como al impacto del estrés crónico sobre su actividad y variaciones diurnas.

Palabras claves: Estrés académico, cortisol sérico, amilasa salival.

EVALUATION OF ACADEMIC STRESS, SERUM CORTISOL AND SALIVARY α -AMYLASE IN UCV BIOANALYSIS STUDENTS

SUMMARY

The students of Bioanalysis School from Universidad Central de Venezuela frequently express that this is a very stressful career. However, academic stress has not been properly studied in this School. Blood cortisol has been used as a classical stress biomarker and in recent years, it has been reported that salivary α -amylase activity could be a good acute stress marker in humans since the sympathetic stimulation increases its secretion by salivary glands, specially the parotid. *Objectives:* to evaluate academic stress, serum cortisol and salivary α -amylase in 4th and 8th semester students of this School. *Materials and Methods:* Academic Stress Evaluation Questionnaire (De Pablo et al, 2004) was employed to assess the intensity and frequency with which these students perceived 18 academic stressors. Serum cortisol and salivary α -amylase were quantitated in blood and saliva specimens collected 4 days (day A) or 6 days (day A+) before a written examination, the day of the exam (day B) and 4 days after the exam (day C) between 7:00 and 8:00 a.m. *Results:* academic stress was perceived with similar intensity by the students of both semesters, but 8th semester students showed higher frequency of exposition to stressors. 4th semester: serum cortisol and salivary α -amylase did not change among the evaluated days. 8th semester: cortisol diminished in day C respect to days A and B, without modifications in amylase activity among these days. *Conclusions:* the higher frequency of exposition to stress and the experience acquired during their longer continuing time in the career could be associated to a better adaptive response to examination period stress in 8th semester students. Salivary α -amylase must be further investigated to know the ideal time and methods to collect samples, as well as the impact of chronic stress on its activity and diurnal pattern of secretion.

Key words: Academic stress, serum cortisol, salivary amylase.

Introducción

La respuesta al estrés es considerada una ventaja evolutiva que permite a los seres vivos protegerse de situaciones potencialmente amenazantes o que pongan en riesgo sus vidas. Sin embargo, el estrés se ha convertido en los últimos años en un problema de salud pública, debido a la sobreexposición que experimentan los individuos de las sociedades modernas a situaciones estresantes (1, 2). El estrés prolongado o crónico ha sido asociado a la

fisiopatogenia de una serie de enfermedades, las cuales representan causas importantes de morbi-mortalidad a nivel mundial. Es el caso de enfermedades psiquiátricas (3), metabólicas, cardiovasculares (4), inmunológicas, infecciosas (5) digestivas (6) y cáncer (7), entre otras.

El estudio del estrés y sus efectos en humanos resulta bastante complejo dada la diversidad de variables que pueden modificar dicha respuesta y que son difíciles de controlar, entre ellas la heterogeneidad genética y

Solicitar copia a: Matilde Medina-Martel (e-mail: linext2000@yahoo.com)

cultural, la edad, el sexo, los estresores a considerar, las diferencias interindividuales en la forma de percibir los estímulos estresantes (5, 8), así como la imposibilidad de mantener a los individuos expuestos a un único estresor. Es por ello que los resultados obtenidos por los investigadores que trabajan en esta área pueden llegar a ser tan diferentes (9). No obstante, existen varios paradigmas para el estudio del estrés en seres humanos. Uno de estos modelos es el de estrés académico (10, 11). El estrés académico es aquel que se produce en el ámbito educativo como resultado de las exigencias académicas que se les presentan a los estudiantes durante la prosecución de sus estudios (12).

En el caso particular de la Escuela de Bioanálisis de la UCV, los estudiantes manifiestan con frecuencia que la carga horaria y académica de la carrera es altamente estresante, lo cual podría estar asociado a bajo rendimiento y a trastornos de salud. A pesar de lo referido anteriormente, el estrés académico y su impacto sobre diversos biomarcadores de estrés no han sido apropiadamente estudiados en esta población estudiantil. El cortisol en sangre (sérico o plasmático) es uno de los biomarcadores clásicos empleados para evaluar la respuesta al estrés en humanos (13). Se ha señalado que sería más conveniente medir cortisol salival como marcador de estrés (14) puesto que representa la fracción libre del cortisol plasmático y la obtención de saliva es mucho menos invasiva (15) que la obtención de sangre por punción venosa, la cual podría constituir un estresor *per se* para algunos individuos (16). No obstante, para el momento de la realización de este trabajo no se pudieron ubicar en nuestro país, proveedores de reactivos para la determinación de cortisol salival.

En trabajos publicados durante la última década, se ha reportado que la actividad de la enzima α -amilasa salival podría ser un buen marcador de estrés agudo (17, 18, 19), ya que la estimulación simpática de las glándulas salivales, principalmente las parótidas, aumenta la secreción de esta enzima hacia la saliva. Sin embargo, aún se encuentra en investigación y ha sido poco empleada en el estudio del estrés académico.

Por todo lo antes expuesto, los objetivos de este trabajo fueron: evaluar estrés académico a través de un cuestionario y determinar cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival a estudiantes de los semestres 4to y 8vo de la Escuela de Bioanálisis de la UCV en muestras tomadas 4 días antes, el día de un parcial teórico y 4 días después del mismo, a fin de evidenciar posibles asociaciones entre estos parámetros.

Materiales y Métodos

Sujetos. La aplicación de un cuestionario a 23 estudiantes voluntarios de los semestres 9º y 10º de Bioanálisis nos permitió conocer que el 4to. y el 8vo. semestre son considerados el semestre menos (100%) y el más estresante (87%) de la carrera, respectivamente. Una vez conocida esta información se les dictó una charla informativa sobre los objetivos del trabajo a los estudiantes de 4to. y 8vo. semestre, solicitando su participación voluntaria en el mismo. **Criterios de Inclusión.** Estudiantes de 4to. y 8vo. semestre de la Escuela de Bioanálisis de la UCV, preferiblemente regulares, que expresaran su deseo voluntario de participar en el estudio y firmaran el Consentimiento informado. **Criterios de Exclusión.** Cualquier patología o tratamiento médico que pudiera alterar la respuesta al estrés, como esteroides, antidepresivos o ansiolíticos, padecimiento de infección activa o cirugía reciente, el uso de anticonceptivos orales (éste sólo para la determinación de cortisol total sérico) o cualquier enfermedad inflamatoria crónica de las encías.

Recolección de datos y cuestionario. Se obtuvieron datos demográficos como: sexo, edad, condición regular o repitiente y número de materias electivas inscritas y se aplicó el Cuestionario de Evaluación de Estrés Académico (CEEA) diseñado por De Pablo y col (20) y validado en estudiantes universitarios venezolanos por Feldman y col (21). Este fue respondido por 27 estudiantes voluntarios de cada uno de los semestres en estudio. El CEEA es autoaplicado y consta de 18 ítems o estresores académicos los cuales son valorados a través de una escala tipo Likert de 0 a 9, desde nada estresante hasta muy estresante, permitiendo de este modo medir la intensidad con la cual éstos son percibidos por los individuos. La pregunta: "últimas 4 semanas SI___ NO___", permitió evaluar la frecuencia de exposición a cada uno de los estresores en las últimas 4 semanas. Los estresores evaluados fueron los siguientes: 1. Preparar un examen inmediato, 2.- Efectuar un examen oral, 3.-Efectuar un examen escrito, 4.- Esperar los resultados de un examen, 5.- Suspender un examen, 6.- Ser preguntado en clase, 7.- Preparar un trabajo individualmente, 8.- Preparar un trabajo en grupo, 9.- Preguntar una duda al profesor en clase (en público), 10.- Preguntar una duda al profesor fuera de la clase (en privado), 11.- Hablar con un profesor sobre tus problemas académicos, 12.- Participar en un seminario (discusión de temas en grupos reducidos), 13.- Efectuar actividades de práctica, 14.- Exponer un tema en clase, 15.- Discutir problemas académicos, 16.- Entrar o salir del aula cuando la clase ya ha empezado, 17.- Excesiva

cantidad de materia para estudiar, 18.- Falta de tiempo para estudiar.

Obtención de muestras de sangre y de saliva

Las muestras se obtuvieron entre las 7:00 y 8:00 am con los sujetos en condición de ayuno, previa lectura y firma del Consentimiento Informado por cada uno de los participantes. Las muestras se tomaron 4 días antes de un segundo parcial teórico (día A), el día del parcial (día B) y 4 días después del parcial (día C). Un total de 14 estudiantes del 4to. semestre (divididos en dos grupos, 6 en el primero y 8 en el segundo) donaron muestras de sangre y de saliva. Por razones inherentes a su cronograma de actividades académicas y a cambios en las fechas de los exámenes parciales realizados a solicitud de los estudiantes, a los sujetos incluidos en el 2do. grupo de voluntarios del 4to. semestre, se les tomaron las primeras muestras 6 días antes del parcial (día A+). 22 estudiantes del 8vo. semestre fueron donantes voluntarios de muestras. En este semestre se cumplió cabalmente el esquema de toma de muestras planteado en el presente trabajo.

Se obtuvo sangre venosa sin anticoagulante por punción en fosa antecubital para la obtención de suero, el cual fue empleado en la determinación de cortisol sérico. Luego de la retracción del coágulo las muestras fueron centrifugadas durante 10 minutos a 2000 rpm a fin de separar el suero del paquete globular. Los sueros fueron congelados a -20°C hasta el momento de la determinación.

La saliva se obtuvo por salivación espontánea (22) previo enjuagado de la boca con 60 ml de agua potable a temperatura ambiente. Las muestras fueron centrifugadas para precipitar las células epiteliales provenientes de la mucosa oral y el sobrenadante fue recuperado y congelado a -20°C .

Esta investigación contó con el Aval del Comité de Bioética de la Escuela de Bioanálisis de la UCV.

Determinación de cortisol sérico

El cortisol sérico fue determinado mediante un ELISA inmunofluorescente competitivo de la marca TOSOH según las instrucciones del fabricante, en un equipo TOSOH modelo aia 600ii previa calibración del equipo para la prueba y aceptación de los valores obtenidos para los sueros controles empleados, los cuales correspondieron a dos niveles de control: normal y alto.

Determinación de amilasa salival

La actividad de alfa-amilasa salival se determinó mediante un ensayo de tipo cinético de la marca comercial HELFA Diagnósticos. Este se basa en la hidrólisis directa del sustrato sintético 2-cloro,4-

nitrofenil, α -maltotriósido por la amilasa presente en la muestra para producir 2-cloro,4-nitrofenol el cual se determina espectrofotométricamente a 405 nm. La medición se efectuó en un equipo Stat Fax Millenium III previa dilución 1:200 de las muestras con solución salina fisiológica (14). Estas fueron procesadas por duplicado, reportándose el valor promedio de ambas lecturas. Para los controles empleados, BioRad nivel 1 y 2, siempre se obtuvieron valores dentro del rango esperado establecido por el fabricante.

Estadística

Los resultados se presentan como porcentajes y media \pm error estándar de la media. Las medias se compararon empleando el método estadístico t de Student del programa Excel de Microsoft y el coeficiente de correlación de Pearson fue calculado para evaluar las correlaciones estadísticas entre el cortisol y la amilasa a través del programa estadístico SPSS 22.0. Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Resultados

Características de la muestra en estudio

Los participantes que respondieron el CEEA fueron principalmente de sexo femenino, 92% en el 4to. semestre y 77,7% en el 8vo. semestre, con edades promedio de $21,07 \pm 0,57$ años en 4to. y $23,0 \pm 0,15$ años en 8vo semestre. La mayoría fueron estudiantes regulares, 81,4% en el 4to. semestre y 92,5% en el 8vo. Un porcentaje similar cursó 4 materias obligatorias: 74,1% en 4to. semestre y 70,4% en el 8vo. Sin embargo, un 81,4% de los estudiantes del 4to. semestre y sólo un 18,6% de los estudiantes del 8vo. semestre cursaron materias electivas.

Estrés Académico Autopercebido

El estrés académico autopercebido global fue similar entre ambos semestres, con un valor promedio de $5,42 \pm 0,21$ en el 4to semestre y $5,80 \pm 0,14$ en el 8vo, sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos (Tabla 1). Estos valores se ubicaron en el rango de estrés moderado en la escala del 1 al 9, donde la valoración de 1 a 3 fue considerada como poco estresante, de 4 a 6, moderadamente estresante y de 7 a 9, muy estresante.

El estresor "efectuar un examen escrito" fue percibido con moderada intensidad y con elevada frecuencia por los estudiantes de 4to. y de 8vo. semestre. Esta concordancia en cuanto a intensidad y frecuencia fue conveniente al relacionar este estresor con los biomarcadores de estrés evaluados en este trabajo.

TABLA 1. Valores promedio de la intensidad de estrés académico autopercibido global de los semestres en estudio.

Estrés Académico Autopercibido global	
4to. Semestre (X \pm EE)	8vo. Semestre (X \pm EE)
5,42 \pm 0,21	5,80 \pm 0,14

Los valores se presentan como la media \pm error estándar de la media. n=27.

Cuando se evaluó la frecuencia de exposición a los estresores contemplados en el CEEA, se observó que un porcentaje igual o mayor al 80% de los estudiantes del 4to semestre estuvieron expuestos a 7 de los mismos en las últimas 4 semanas mientras que 80% o mas de los estudiantes del 8vo semestre estuvieron expuestos a 12 de estos estresores en las últimas 4 semanas, lo cual constituye una exposición 71,43% mas alta que la experimentada por los estudiantes del 4to semestre (Figura 1).

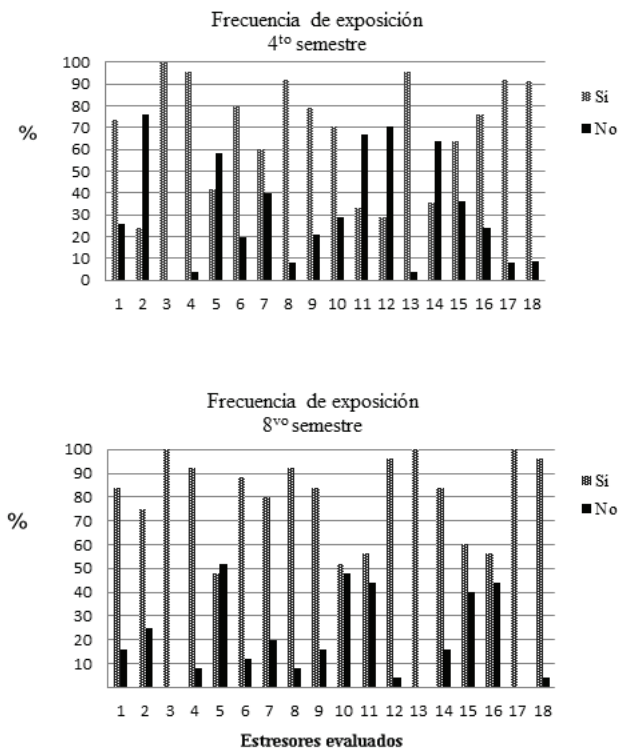


FIGURA 1. Exposición a los estresores evaluados en las últimas 4 semanas para los estudiantes de 4to. (gráfica superior) y 8vo. semestre (gráfica inferior). Los datos se expresan en porcentaje. n=27.

Cortisol Sérico

4to. semestre. Los valores de cortisol obtenidos en el 1er. grupo de voluntarios fueron, el día A: 13,15 \pm 1,41 μ g/dL, el día B: 16,14 \pm 1,86 μ g/dL y el día C: 19,72 \pm 2,67 μ g/dL. En el 2do grupo de voluntarios se obtuvieron en el día A+: 14,74 \pm 1,51 μ g/dL, el día B: 15,58 \pm 2,02 μ g/dL y el día C: 12,89 \pm 1,49 μ g/dL. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí. Puesto que los valores obtenidos en los días B y C de ambos grupos de voluntarios se tomaron en las mismas condiciones de tiempo con respecto al examen parcial, se promediaron sus valores para compararlos con los valores obtenidos en el 8vo semestre. El valor obtenido al promediar los 2 grupos de voluntarios del 4to semestre fue 15,81 \pm 1,35 μ g/dL el día B y 15,73 \pm 1,68 μ g/dL el día C.

8vo. semestre. Día A: 13,48 \pm 0,99 μ g/dL, día B: 13,54 \pm 1,03 μ g/dL y día C: 10,96 \pm 0,96 μ g/dL. El cortisol del día C fue estadísticamente menor con respecto a los días A (p=0,02) y B (p=0,006). Al comparar los valores del cortisol en los días B y C entre el 4to y 8vo semestre no se observaron diferencias significativas entre los días B de estos semestres (p=0,193) pero si entre los días C (p=0,023) (Figura 2).

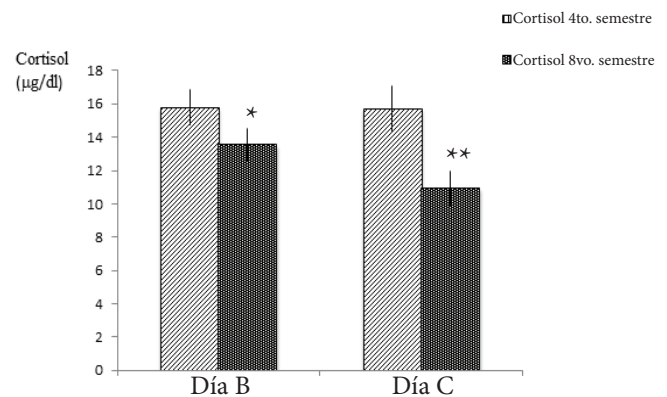


FIGURA 2. Comparación del cortisol sérico correspondiente a los días B y C en estudiantes del 4to y 8vo semestre de Bioanálisis. Los valores se muestran como media \pm error estándar de la media. (*): p<0,05 respecto al día B del 8vo. semestre, (**): p<0,05 respecto al día C del 4to. semestre. 4to. semestre: n=12. 8vo. semestre: n=20.

Amilasa salival

4to. semestre. Los valores de amilasa obtenidos en el 1er. grupo de voluntarios fueron el día A: 29,53 \pm 8,87 UI/mL, el día B: 21,12 \pm 6,08 UI/mL y el día C: 20,82 \pm 5,18 UI/mL. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí. En el

2do. grupo de voluntarios se obtuvieron en el día A+: $35,80 \pm 15,73$ UI/mL, el día B: $26,21 \pm 7,33$ UI/mL y el día C: $36,72 \pm 11,37$ UI/mL. Estos valores tampoco fueron estadísticamente diferentes entre sí. El promedio de los valores obtenidos en los días B y C de ambos grupos de voluntarios fue $24,02 \pm 4,80$ μ g/dL el día B y $29,90 \pm 6,99$ μ g/dL el día C. 8vo. semestre. Día A: $35,31 \pm 7,53$ UI/mL, día B: $34,13 \pm 7,89$ UI/mL y día C: $26,88 \pm 5,56$ UI/mL. Estos valores no fueron estadísticamente diferentes entre sí. La comparación de los valores obtenidos en los días B y C con el 4to. semestre, no arrojó diferencias significativas (Figura 3). La prueba de Pearson no arrojó resultados significativos en cuanto a la correlación entre cortisol y amilasa en los semestres 4to. y 8vo. para los días evaluados.

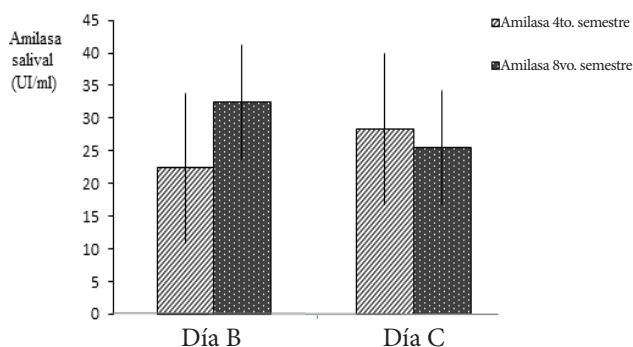


FIGURA 3. Comparación de la actividad de la α -amilasa salival correspondiente a los días B y C en estudiantes de 4to. y 8vo. semestre de Bioanálisis. Los valores se presentan como media \pm error estándar de la media. 4to. semestre: n=14. 8vo. semestre: n=22.

Discusión

La participación femenina fue predominante en este estudio, lo cual se asocia a la mayor proporción de estudiantes de sexo femenino que constituyen la población estudiantil de la Escuela de Bioanálisis de la UCV y que concuerda con lo observado en otras Escuelas de Bioanálisis del país (23) y del extranjero (24). Las edades promedio coinciden con otros trabajos realizados en estudiantes universitarios de 4to. y 8vo. semestres (2do. y 4to. año. respectivamente) (23-25).

El estrés académico global obtenido en este estudio se ubicó dentro del rango de estrés moderado en los dos semestres evaluados, resultando similar a lo reportado por Labrador (23) en estudiantes de Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en Mérida, Venezuela, quien al aplicar este cuestionario obtuvo un valor promedio de $4,98 \pm 1,17$. Blanco y col (25) encontraron niveles

moderados de estrés académico en estudiantes de 1ero. a 4to. año de Terapia Ocupacional de la UCV al aplicar el mismo instrumento.

No obstante, aunque los estudiantes de ambos semestres percibieron los estresores evaluados con similar intensidad, los estudiantes del 8vo semestre estuvieron expuestos a los mismos con una mayor frecuencia que los estudiantes del 4to. semestre.

En el 4to. semestre, las concentraciones de cortisol sérico fueron iguales entre los días A (o A+), B y C. En la literatura consultada se encontraron algunos trabajos con resultados similares en relación a los valores de cortisol antes y después de exámenes en estudiantes universitarios. Vedhara y col (26) estudiaron una población de 60 estudiantes (36 hombres, 24 mujeres, edad promedio de 22 años) y encontraron un aumento en los niveles percibidos de estrés al presentar un examen parcial en comparación con un período en donde no se presentó, sin diferencias significativas en los niveles de cortisol salival entre ambas situaciones. Siachoque y col (27) determinaron cortisol sérico, prolactina y títulos de anticuerpos IgG anti Herpes simple tipo I, 15 días antes, durante y 15 días después de los exámenes trimestrales, en 26 estudiantes de Medicina. Los valores promedio de cortisol de los 3 días evaluados no mostraron diferencias significativas entre sí, aunque si hubo aumentos significativos de prolactina y títulos de Acs después de los exámenes. Takatsuji y col (28) determinaron cortisol salival inmediatamente antes de un examen parcial e inmediatamente y dos horas después de finalizado en 15 mujeres estudiantes de enfermería, de 21 a 26 años de edad, pero no encontraron diferencias significativas entre el cortisol promedio de estos 3 momentos. Singh y col (15) evaluaron la concentración de cortisol salival en estudiantes de primer año de Medicina (21 hombres, 14 mujeres, edad promedio $20,4 \pm 1,59$ años) dos semanas antes y el día de un examen oral, observándose un incremento significativo en el cortisol el día del examen en los hombres, mas no en las mujeres.

El comportamiento del cortisol en los estudiantes del 4to. semestre, podría atribuirse a una inapropiada adaptación al estrés que representaron los exámenes parciales o la respuesta a otros estresores académicos a los que estuvieron expuestos durante ese período, ya que la intensidad de la respuesta al estrés debería disminuir cuando los individuos se enfrentan de manera reiterada a un estresor, de manera que la valoración del mismo va cambiando a medida que estos adquieren recursos de afrontamiento y disminuye la percepción de amenaza que el evento estresor representa para ellos (29). Este comportamiento podría estar asociado a diferentes

factores, algunos exclusivamente académicos (Ej: exceso de materias inscritas, sobrecarga académica, falta de tiempo para estudiar) y a otros de diferente índole, como circunstancias personales, familiares, económicas, sociales, etc. Otra variable importante a considerar es el tiempo, ya que cabe la posibilidad de que el cortisol de estos estudiantes disminuya inmediatamente después del parcial y su valor elevado a los 4 días del parcial se deba a estresores diferentes del examen. Por lo tanto, al realizar las tomas de muestras a varios tiempos después del parcial, unas inmediatas (minutos a pocas horas después) y otras más tardías (1, 2 y 3 días después), se podría estudiar mejor esta dinámica para el caso de investigaciones futuras. De persistir este tipo de respuesta en esta población, sería necesario brindarle herramientas en forma oportuna que le permitan mejorar el manejo del estrés, evitando así que la deficiente adaptación al mismo, sea causa de agotamiento, frustración, desmotivación, bajo rendimiento o problemas de salud en general.

Los estudiantes del 8vo semestre exhibieron concentraciones de cortisol sérico similares en los días A y B. Sin embargo, la disminución del cortisol sérico observada en el día C, concuerda con otros autores que reportan la disminución del cortisol luego de un examen en estudiantes del área de la salud. Elizabeth y col (30) observaron una disminución significativa del cortisol sérico dos días después de un examen parcial en 34 estudiantes de primer año de medicina con edad promedio de 18,74 años. Rachit y col (31) encontraron una disminución significativa de los valores de cortisol sérico matutino dos días después de un examen en 55 estudiantes de medicina, sexo masculino. Onyenekwe y col (32) obtuvieron una disminución significativa del cortisol sérico inmediatamente después de un parcial en estudiantes universitarios de ambos sexos y con edad promedio de 24 años. Martín Carreras-Presas (33) observaron niveles elevados de cortisol salival inmediatamente antes de un examen parcial y su disminución significativa minutos después del mismo en 33 estudiantes de 4to año de Odontología con edad promedio de 22 años. Estos resultados indican que ante un estresor académico de este tipo, generalmente se produce una respuesta de estrés que involucra la activación del eje Hipotálamo Hipófisis Suprarrenales con el consecuente aumento del cortisol y que éste disminuye una vez que cesa el estímulo. Sin embargo, la respuesta al estrés puede ser muy diferente de una persona a otra y ante situaciones nuevas o a las que los individuos no están adaptados, la respuesta puede ser prolongada, tardando más en alcanzar sus niveles basales. Así se ha observado en estudiantes de Doctorado en los que se ha estudiado

la activación de múltiples genes antes, durante y después de una prueba de elevada exigencia académica como es el examen calificador (29). Al relacionar los resultados del cortisol con los obtenidos a partir del CEEA, se podría inferir que los estudiantes del 8vo semestre, a pesar de tener una intensidad de estrés académico autopercebido similar a los del 4to, poseen una mejor capacidad de adaptación al estrés durante la época de exámenes, lo cual podría deberse a su alta frecuencia de exposición al mismo y a su mayor prosecución académica dentro de la carrera. Lo cual pudo haberse traducido en un menor tiempo requerido para alcanzar los niveles basales con la disminución concomitante del cortisol 4 días después del parcial, en contraste con lo observado en los alumnos del 4to semestre, tomando en cuenta que los estudiantes de ambos semestres están sometidos a un régimen de evaluación continua con quices, interrogatorios y prácticas de laboratorio de martes a viernes.

La actividad de la α -amilasa salival es un parámetro que aún se encuentra en investigación como marcador de estrés. Su incremento en respuesta al estrés se asocia a una mayor actividad del sistema nervioso simpático, el cual inerva las glándulas salivales, estimulando una mayor secreción de proteínas hacia la saliva, entre ellas la amilasa.

Existe evidencia de que esta enzima salival tiene un patrón de secreción diurno. Nater y col, (34) cuya investigación llevada a cabo en 76 sujetos tuvo como objetivo describir dicho patrón, revelaron que ésta disminuye marcadamente 60 minutos después de despertar y va aumentando de manera constante a lo largo del día. Adam y col (35) al realizar un estudio en adolescentes, demostraron valores de amilasa salival más bajos en la mañana que se fueron incrementando en el transcurso del día.

Los valores obtenidos en el presente trabajo se aproximan a los reportados en estudiantes de psicología por Schoofs y col (8) en días sin exámenes (23.75 ± 4.04 UI/ml) y a los valores encontrados en adolescentes al levantarse por Adam y col (35) ($34,34$ UI/ml). Sin embargo, son mayores a los observados por Arhakis y col (36) en jóvenes recién graduados de Odontología de $25 \pm 5,06$ años antes de masticar chicle sin azúcar ($13,01$ UI/ml), pero mucho menores a los reportados por Martín Carreras-Presas y col (33) en estudiantes de Odontología ($141,84$ UI/ml). Es posible que la heterogeneidad en los valores encontrados en la literatura sea producto de condiciones diferentes en cuanto a la hora y la toma de la muestra.

En los trabajos consultados se observó además, gran diversidad en cuanto a los paradigmas de estrés asociados con la actividad de alfa-amilasa salival, como estresores

físicos (37, 38) o de tipo psicosocial (39, 40), pero pocos referentes a estrés académico. Schoofs y col (8) estudiaron el efecto de un examen oral sobre la actividad de amilasa salival en estudiantes de psicología. Estos encontraron elevaciones significativas de la enzima inmediatamente después del examen respecto al valor observado al inicio del mismo o en los días controles (7 días antes o 7 días después). Martín Carreras-Presas y col (33), midieron actividad de amilasa salival inmediatamente antes de un examen parcial a las 8:15 a.m. e inmediatamente después del mismo, a las 10:15 a.m. en estudiantes de Odontología, sin encontrar diferencias entre ambos valores. Otros investigadores han evaluado el efecto de pruebas estandarizadas de estrés sobre este parámetro. Thoma y col (40), aplicaron el Trier Social Stress Test (TSST) a 66 individuos de edad promedio de 24,3 años y tomaron muestras de saliva inmediatamente antes de la prueba y 1, 20 y 45 minutos posteriores a la misma para determinación de amilasa. Un minuto después de la prueba hubo una elevación significativa de la enzima, con un descenso a los 20 y 45 minutos, concluyendo que existe una clara asociación entre la respuesta al estrés agudo y la liberación de α -amilasa salival.

Estudios recientes han reportado que la actividad de α -amilasa salival no sólo aumenta en respuesta al estrés agudo (16, 41), sino también en situaciones de estrés crónico. Vineetha y col (42) encontraron valores significativamente mayores de amilasa salival en pacientes con altos niveles de estrés crónico y ansiedad (159 UI/ml) respecto a pacientes controles (98 UI/mL), cuando las muestras fueron tomadas entre las 2 y 3 pm. Según Bosch y col (19) la actividad de la amilasa salival es la suma de un gran número de factores que contribuyen a su secreción, en la cual, la estimulación simpática de la glándula es sólo uno de ellos. Por tal motivo, consideran demasiado simplista asumir que la secreción de la enzima sea un buen marcador de respuesta al estrés, si se toma en cuenta que las glándulas salivales son un sofisticado y heterogéneo grupo de órganos capaz de responder con un alto nivel de especificidad a estímulos relacionados con la digestión, el habla y la función inmune.

En vista de todo lo anterior, es evidente que aún falta mucho por investigar sobre el valor de la α -amilasa salival como biomarcador de estrés, puesto que, a diferencia del cortisol, aún no existe un criterio unificado en referencia a la hora de toma de las muestras o a los métodos de recolección de las mismas.

Con respecto a los resultados obtenidos en el presente trabajo, sería conveniente investigar a futuro, si la valoración de actividad de amilasa salival al principio

del semestre, antes de iniciar cualquier tipo de evaluación, sería un mejor reflejo de la condición basal de los estudiantes (para este biomarcador) que 4 días antes o 4 días después del examen parcial, en vista de la posibilidad de que sea alterada por estrés crónico.

Conclusiones

Aunque la intensidad del estrés académico autopercebido fue similar entre los dos semestres, los estudiantes del 8vo mostraron una aparente mejor adaptación al mismo durante la época de exámenes, evidenciada por la disminución del cortisol sérico en el día C, lo cual podría deberse a la alta frecuencia de exposición a los estresores académicos y a su mayor prosecución y experiencia dentro de la carrera con respecto a los estudiantes del 4to. semestre. La ausencia de cambios en la actividad de la α -amilasa salival entre los días evaluados podría estar asociada al efecto del estrés crónico sobre su secreción. La falta de correlación entre los valores de cortisol sérico y amilasa salival podría indicar que ambos marcadores tienen comportamientos diferentes en respuesta a los estímulos estresantes como ha sido propuesto recientemente por otros investigadores.

Agradecimientos

A la Prof. María Fátima Garcés, a la Lic. Maribel Zambrano y a Científica Industrial de Venezuela por su apoyo con la dotación de reactivos para el desarrollo del presente trabajo. Al Lic. Fariel Casadiegos y a la Lic. Marlene Briceño por su amable colaboración con la determinación de cortisol en el equipo TOSOH ubicado en el Ambulatorio del Hospital Clínico Universitario de la UCV. A la Prof. Claudia Mark y a la Cátedra de Estadística de la Escuela de Bioanálisis por la asesoría en materia estadística. Al personal Docente de las Cátedras de Fisiología y Bioquímica "A" y "C" de la Escuela de Bioanálisis por su valioso apoyo en el desarrollo del presente trabajo.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado parcialmente por el CDCH, Proyecto Individual 09-8776-2013/1.

Referencias

1. McEwen BS. Central effects of stress hormones in health and disease: understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators. *Eur J Pharmacol* 2008;583:174-185.
2. Sood P, Priyadarshini S, Aich P. Estimation of psychological

- stress in humans: a combination of theory and practice. PLoS One 2013; 8(5): [serie en Internet]. [citado 1 junio 2014] Disponible en: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0063044>
3. Rao U. Comorbidity between depressive and addictive disorders in adolescents: role of stress and HPA activity. U.S. Psych 2010;1:39-43.
 4. Lanas F, Avezum A, Bautista LE, Díaz R, Luna M, Islam S, Yusuf S. Risk factors for acute myocardial infarction in Latin America. Circulation 2007;115:1067-1074.
 5. Dhabar FS. Enhancing versus suppressive effects of stress on immune function: implications for immunoprotection and immunopathology. Neuroimmunomodulation 2009;16:300-317.
 6. Bhatia V, Tandon RK. Stress and the gastrointestinal tract. J Gastroenterol Hepatol 2005;20(3):332-339.
 7. Reiche EM, Morimoto HK, Nunes SM. Stress and depression-induced immune dysfunction: implications for the development and progression of cancer. Int Rev Psychiatry 2005;17:515-527.
 8. Schoofs D, Hartmann R, Wolf O. Neuroendocrine stress responses to an oral academic examination: No strong influence of sex, repeated participation and personality traits. Stress 2008;11(1):52-61.
 9. Segerstrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. Psychol Bull 2004;130(4):601-630.
 10. Cohen S. A global measure of perceived stress. J Health Soc Behav 1983;24:385-396.
 11. Morita K, Saito T, Ohta M, Ohmori T, Kawai K, Teshima-Kondo S, Rokutan K. Expression analysis of psychological stress-associated genes in peripheral blood leukocytes. Neurosci Lett 2005;381(1-2):57-62.
 12. Barraza A. Un modelo conceptual para el estudio del estrés académico. Revista Electrónica de Psicología Iztacala 2006;26(2):270-289. [serie en Internet]. [citado 4 junio 2014] Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/799/79926212.pdf>
 13. Joshi RM, Sanghavi S, Upadhyaya DP, Chauhan A, Halvadia S. Effect of examination stress on the plasma cortisol level. Natl J Med Res 2012;2(4):435-438.
 14. Engert V, Vogel S, Efanov S, Duchesne A, Corbo V, Ali C, Pruessner J. Investigation into the cross-correlation of salivary cortisol and alpha-amylase response to psychological stress. Psychoneuroendocrinology 2011;36(9):1294-1302.
 15. Singh R, Goyal M, Tiwari S, Ghildiyal A, Nattu S, Das S. Effect of examination stress on mood, performance and cortisol levels in medical students. Indian J Physiol Pharmacol 2012;56(1):48-55.
 16. Koh D, Ng V, Lin A. Alpha amylase as a salivary biomarker of acute stress of venepuncture from periodic medical examinations. Front Public Health 2014;2(121):1-5.
 17. Nater UM, LaMarca R, Florin L, Moses A, Langhans W, Koller MM y col. Stress-induced changes in human salivary alpha amylase activity-associations with adrenergic activity. Psychoneuroendocrinology 2006;31:49-58.
 18. Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: Current state of research. Psychoneuroendocrinology 2009;34:486-496.
 19. Bosch JA, Veerman ECI, de Geus EJ, Proctor GB. α -Amylase as a reliable and convenient measure of sympathetic activity: don't start salivating just yet! Psychoneuroendocrinology 2011; 36:449-453.
 20. De Pablo J, Baillés E, Pérez J, Valdés M. Construcción de una Escala de Estrés Académico para Estudiantes Universitarios. Educación Médica 2004;5(1):40-46.
 21. Feldman L, Goncalves L, Chacón G, Zaragoza J, Bagés N, De Pablo J. Relaciones entre estrés académico, apoyo social, salud mental y rendimiento académico en estudiantes universitarios venezolanos. Universitas Psychologica 2008;7:739-749.
 22. Rohleder N, Wolf JM, Maldonado EF, Kirschbaum C. The psychosocial stress-induced increase in salivary alpha-amylase is independent of saliva flow rate. Psychophysiology 2006;43(6):645-52.
 23. Labrador C. Estrés académico en estudiantes de la facultad de Farmacia y Bioanálisis. Tesis Doctoral. Mérida-Venezuela, Universidad de los Andes. 2012;76-121.
 24. Hernández C, González S, González J, Pérez J, Roque I. Variación de la cuenta de linfocitos en estudiantes de la facultad de Bioanálisis bajo estrés. Rev Med UV 2011;Julio-Diciembre:14-17.
 25. Blanco G, Angulo Y, Contreras J, Pacheco Y, Vargas V. Estrés y desempeño ocupacional en estudiantes de terapia ocupacional. Rev Chil Terap Ocupac 2012;12(1):1-16.
 26. Vedhara K, Hyde J, Gilchrist D, Tytherleigh M, Plummer S. Acute stress, memory, attention and cortisol. Psychoneuroendocrinology 2000;25(1):535-549.
 27. Siachoque H, Ibáñez M, Barbosa E, Salamanca A, Moreno C. Efecto del estrés ocasionado por las pruebas académicas sobre los niveles de cortisol y prolactina en un grupo de estudiantes de Medicina. Rev Cienc Salud 2006;4(1):18-30.
 28. Takatsuji K, Sugimoto Y, Ishizaki S, Ozaki Y, Matsuyama E, Yamaguchi Y. The effects of examinations stress of salivary cortisol, immunoglobulin A and chromogranin A in nursing students. Biomed Res 2008;29(4):221-224.
 29. Rokutan K, Morita K, Masuda K, Tominaga K, Shikishima M, Teshima-Kondo S, Omori T, Sekiyama A. Gene expression profiling in peripheral blood leukocytes as a

- new approach for assessment of human stress response. *J Med Invest* 2005;54(3-4):44-137.
30. Elizabeth J, Dayananda G, Kusumadevi M, Sunil K, Sujayasri S, Suhas S. The Response of Serum Cortisol and Leptin Levels to Academic Stress. *J Health Allied Scs* 2009;8(3):1-3. [serie en Internet]. [citado 12 junio 2014] Disponible en: <http://www.ojhas.org/issue31/2009-3-7.htm>
 31. Rachit J, Saurin S, Devanshi U, Ashutosh C, Shital H. Effect of examination stress on the plasma cortisol level. *Natl J Med Res* 2012;2(4):2249-4995.
 32. Onyenekwe CC, Ezeani MC, Udeogu N, Anyiam D, Meludu S, Nnadozie O. Effect of Pre and Post Academic Examination Stress on Serum Level of Cortisol and Progesterone Circulation amongst Students of Nnamdi Azikiwe University Nnewi Campus Anambra State, Nigeria. *International Journal of Tropical Disease & Health* 2014;4(1):62-69. [serie en Internet]. [citado 10 septiembre 2014] Disponible en: <http://www.sciencedomain.org/issue.php?iid=278&id=19>
 33. Martín Carreras-Presas C, Somacarrera M, Díaz L, Rodríguez M. Nivel de estrés autopercebido, alteración de marcadores salivales y respuesta cardiovascular ante la realización de una prueba académica. *Jornadas Internacionales de Innovación Científica* 2011;1(1):1-8.
 34. Nater UM, Rohleder N, Schlotz W, Ehlert U, Kirschbaum C. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrinology* 2007;32(4):392-401.
 35. Adam EK, Till Hoyt L, Granger DA. Diurnal alpha amylase patterns in adolescents: associations with puberty and momentary mood states. *Biol Psychol* 2011;88(2-3):170-173.
 36. Arhakis A, Karagiannis V, Kalfas S. Salivary Alpha-Amylase Activity and Salivary Flow Rate in Young Adults. *Open Dent J* 2013;7(1):7-15.
 37. Van Stegeren A, Wolf O, Kindt M. Salivary alpha amylase and cortisol responses to different stress tasks: Impact of sex. *Int J Psychophysiol* 2008;66:33-40.
 38. O'Donnell K, Kammerer M, O'Reilly R, Taylor A, Glover V. Salivary α -amylase stability, diurnal profile and lack of response to the cold hand test in young women. *Stress*. 2009;12(6):549-554.
 39. Rohleder N, Nater M, Jutta M, Wolf M, Ehlert U, Kirschbaum C. Psychosocial Stress- Induced Activation of Salivary Alpha- Amylase An Indicator of Sympathetic Activity?. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1032:258-263.
 40. Thoma V, Kirschbaum C, Wolf J, Rohleder N. Acute stress responses in salivary alpha-amylase predict increases of plasma norepinephrine. *Biol Psychology* 2012;91:342-348.
 41. Strahler J, Mueller A, Rosenloecher F, Kirschbaum C, Rohleder N. Salivary α -amylase stress reactivity across different age groups. *Psychophysiology* 2010;47(1):587-595.
 42. Vineetha R, Pai KM, Vengal M, Gopalakrishna K, Narayanakurup D (2014). Usefulness of salivary alpha amylase as a biomarker of chronic stress and stress related oral mucosal changes - a pilot study. *J Clin Exp Dent* 2014;6(2):132-137.

EPIDEMIOLOGÍA DE LAS ENFERMEDADES FÚNGICAS INVASORAS

Xiomara Moreno¹.

¹Departamento de Microbiología. Instituto Médico la Floresta.

Recibido para publicación el 15 noviembre 2014. Aprobado para publicación el 8 diciembre 2014.

RESUMEN:

Las enfermedades fúngicas invasoras (EFIs) se presentan en la actualidad como un conjunto de afecciones causantes de una morbimortalidad de gran impacto en la medicina contemporánea. Estas EFIs son causadas por hongos levaduriformes como especies de *Candida*, además de otras levaduras de interés clínico y hongos filamentosos como especies de *Aspergillus*, entre otros. El conocimiento de estas especies de hongos causantes de EFIs, permitirán orientar el diagnóstico clínico preventivo, el tratamiento de las mismas y el incremento epidemiológico de cada centro de salud, el cual va a depender del tipo de pacientes con sus respectivas patologías clínicas.

Palabras claves: Epidemiología, enfermedad fúngica invasora, hongos levaduriformes, hongos filamentosos.

EPIDEMIOLOGY OF INVASIVE FUNGAL DISEASES

SUMMARY

Invasive fungal diseases (EFIs) are presented today as a set of conditions that cause a great impact on morbidity and mortality in contemporary medicine. These EFIs are caused by yeast such as *Candida* species, and other clinically relevant yeasts and filamentous fungi such as *Aspergillus* species, among others. Knowledge of these species of fungi causing EFIs, help guide preventive clinical diagnosis, treatment and epidemiological them increase each health center, which will depend on the type of patients with their clinical conditions.

Key words: Epidemiology, invasive fungal disease, yeast fungus, filamentous fungus.

Introducción

Los hongos son organismos eucariotas, unos se caracterizan por la formación de estructuras filamentosas y otros por presentar estructuras unicelulares como las levaduras, estas estructuras van a ser las formas invasivas patógenas para el humano produciendo alergias o infecciones fúngicas (1). En las últimas décadas las infecciones por micosis invasoras se han presentado como un importante problema de salud pública, bien sea de origen nosocomial o asociadas a cuidados sanitarios (2), en gran parte también por el aumento de la población en riesgo. Las enfermedades fúngicas invasoras (EFIs) están asociadas a elevadas tasas de morbilidad y mortalidad debido a lo dificultoso que es hacer un diagnóstico precoz, lo que conlleva a un retraso en la aplicación del tratamiento adecuado (3).

Entre los pacientes susceptibles a desarrollar una EFI se encuentran los huéspedes inmunosuprimidos por quimioterapia, presencia de tumores sólidos, hematológicos con o sin ausencia de neutropenia y disfunción cualitativa de neutrófilos, receptores de trasplantes hematopoyéticos o de órganos sólidos,

los que presentan disfunción en la inmunidad celular debido al uso prolongado de corticosteroides e inmunosupresores, infectados por VIH, cirugías de gran investidura, pacientes con enfermedades autoinmunes, los que reciben terapias biológicas, prematuros, en edad avanzada y críticamente enfermos (2,3,4). Esta diversidad en la inmunidad y los avances en la medicina ha conllevado a cambios significativos en la epidemiología de las infecciones por hongos y en la utilización de los antifúngicos para la prevención y tratamiento empírico de estas micosis (5).

Las EFIs más frecuentes en estos pacientes es la causada por *Candida* spp., que a veces es clínicamente indistinguible de la septicemia bacteriana, seguida aunque en menor frecuencia de micosis respiratorias o diseminadas causadas por hongos filamentosos como *Aspergillus*, *Scedosporium*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Zigomicetos* y *Pneumocystis*, y hongos pertenecientes a la división Zygomycota. También se encuentra involucrado *Pneumocystis jirovecii* (6). En la actualidad la candidiasis invasora es la cuarta causa de infección nosocomial en los EE.UU y Europa, además de ser el

Solicitar copia a: Xiomara Moreno Calderón (e-mail: x.morenoc@hotmail.com)

tercer agente microbiano en aislarse de hemocultivos en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI), su mortalidad se ha atribuido en un 25-38%. La aspergilosis invasora se presenta en 1,25% en paciente de UCI, pero con una alta incidencia de mortalidad que puede ir de un 40-100% (7). En la presente revisión se analizarán aspectos epidemiológicos y ciertos tópicos clínicos de los agentes fúngicos más relevantes y comúnmente aislados en las EFIs, específicamente en pacientes que presentan una alteración en el sistema inmunológico.

Epidemiología de las levaduras como causantes de EFIs

La candidiasis de mucosa (orofaríngea, vaginal y esofágica) han disminuido por la aparición de los antirretrovirales de alta eficacia. *Candida albicans* (*C. albicans*) sigue siendo la más identificada, pero debido a la aplicación preventiva con antifúngicos se han incrementado aislamientos de *Candida* no *albicans* entre ellas tenemos: complejo *Candida glabrata* (*C. glabrata*), *Candida krusei* (*C. krusei*), complejo *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*), *Candida dubliniensis* (*C. dubliniensis*), etc (7). El género *Candida* es el más aislado como causante de fungemias, se le atribuye una tasa de mortalidad de un 39% en pacientes con cáncer (8).

La candidiasis invasiva sigue presentándose como la micosis más oportunista en el mundo y una de las principales causantes de fungemia nosocomial (5). McNeil et al (9), en un estudio realizado en Estados Unidos reseñó que las EFIs eran la séptima causa más frecuentes de infecciones causadas por microorganismos y que *Candida* era la cuarta causa de infección en pacientes hematológicos. Arendrup et al. (10), en un estudio sobre fungemias durante un período de dos años (2004-2006), presentaron una alta incidencia, refiriendo 1.089 episodios que reflejan 104 casos anuales por millón de habitantes.

En América Latina, específicamente la red Brasileña de candidemias reportó una incidencia global de 2.49 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios o 0.37 casos por 1.000 pacientes-día (11). En los Estados Unidos oscila entre 60 y 240 episodios por millón mientras que en las publicaciones Europeas varía entre unos 25 y 50 episodios por millón en un año (12). Canadá presenta 0,45 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, Europa: 0,20 a 0,38 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, Francia: 0,17 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, Noruega: 0,17 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, Hungría: 0,20 a 0,40

casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, Italia: 0,38 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, España: 0,76 a 0,81 casos por cada 1.000 ingresos hospitalarios, una UCI pediátrica en Argentina señaló 1.09 casos por 1.000 ingresos hospitalarios (11). En España-Barcelona, obtuvieron 51% de aislamientos de *C. albicans* de 345 episodios de candidemias, seguidas por *C. parapsilosis* con 23% y *C. tropicalis* con 10%, produciendo una incidencia anual de 4,3 casos/100.000 habitantes, además de que el 89% de estos pacientes tenían catéter venoso central (13).

Un estudio Brasileño reseña que *C. albicans* representó un 49,9%, *C. tropicalis* 20,9%, *C. parapsilosis* 20,5% y *C. glabrata* solo un 4,9%; esta misma distribución se ha presentado y ha permanecido en Brasil, Argentina y Chile a través del tiempo (14). Otro estudio multicéntrico realizado en Colombia, Ecuador y Venezuela, la proporción fue de 62% para *C. albicans*, 11% para *C. parapsilosis*, 8,5% *C. tropicalis* y 3,5% para *C. glabrata* (15). Los resultados de estos estudios son diferentes a los presentados por investigadores de los Estados Unidos, donde *C. glabrata* es la más aislada, mientras que *C. parapsilosis* se relaciona con los recién nacidos; en América Latina *C. parapsilosis* se distribuye en todas las edades (5, 7, 11). También existen otro tipo de levaduras que no son usuales pero que se están incrementando específicamente en pacientes inmunocomprometidos y con dispositivos intravasculares como son los géneros *Trichosporom* spp., *Geotrichum* spp. y *Rhodotorula* spp., causantes de fungemias (7).

En Venezuela un estudio piloto donde participaron diversos centros de salud públicos y privados, específicamente del área metropolitana, identificaron 154 aislados provenientes del torrente sanguíneo, donde *C. tropicalis* (60) fue la mayormente aislada, seguida de *C. parapsilosis* (40), *C. albicans* (29), *C. glabrata*, *C. lusitaniae* (7), *C. krusei* (4) y *Candida* spp. (2), (16). Moreno et al (17); en un estudio de un centro privado de salud procesaron 14935 hemocultivos, de los cuales 125 resultaron positivos para *Candida* refiriendo el siguiente orden: *C. parapsilosis* (55), *C. tropicalis* (27), *C. glabrata* (18), *C. albicans* (14), *C. krusei* (6) y 5 de otras especies de *Candida*. Otros estudios sobre candidemia en Venezuela han reportado porcentajes variables de aislamientos de *Candida* spp. como causantes de infección nosocomial. Estos aislamientos de *Candida* causantes de fungemias van a depender del centro hospitalario en estudio. (18,19,20,21).

La criptococosis es otro tipo de infección micótica, causada por especies levaduriformes del Complejo *Cryptococcus neoformans*, que ha tenido su incremento antes de la terapia antirretroviral en los pacientes con VIH y su forma diseminada afecta del 5 al 10% en estos pacientes. La meningitis subaguda o la meningoencefalitis es la presentación clínica más común (22).

Un estudio en América Latina sobre criptococosis donde participaron países como Colombia, Chile, México, Perú, Guatemala, Argentina, Venezuela y España, con un total de 340 aislamientos clínicos, veterinarios y ambientales, 177 aislados clínicos provenían de pacientes con SIDA 86% eran serotipo A, 7,4% fueron híbrido serotipo AD, 3,4% fueron serotipo D y el resto pertenecían a los serotipos B y C (11). Un estudio realizado durante 12 años en Colombia, evaluaron 178 aislados clínicos, donde el 91,1% pertenecían al serotipo A, 8,4%, al serotipo B y 0,5% al serotipo C. No se encontraron serotipos D o AD (23).

Singh et al. (24); reportan un estudio de 111 trasplantados hepáticos, donde la criptococosis se instauró después de los 21 meses de haberse realizado el trasplante. 54% (60/111) tuvieron afección pulmonar, 52,2% (58/100) presentaron afección en el sistema nervioso central y 8,1% (15/111) la infección se evidenció en piel, tejidos blandos y sistema osteoarticular. La tasa de mortalidad en esta investigación a los 90 días de instaurarse la criptococosis fue de 14% (16/111).

Otro estudio presentado por Rees et al (25); observaron durante un año 178 EFIs por millón de habitantes en San Francisco-California, describiendo 73 casos de *Candida* y 65 casos de *Cryptococcus*, por millón de habitantes. Cabe destacar que el alto número de aislamientos de *Cryptococcus* se debe a pacientes infectados por VIH antes de ponerse en boga el tratamiento antirretroviral de gran efectividad.

Con el advenimiento de la terapia antirretroviral de alta capacidad se ha observado una disminución en la incidencia de infecciones oportunistas principalmente la criptococosis. Un estudio realizado en Brasil reporta que en pacientes con SIDA para el año 1995, existía un 7,7% con esta infección la cual se redujo para el año 2001 a 3,1% (26). Otro estudio chileno que evaluó 1.057 pacientes VIH señaló que la prevalencia por meningitis criptococócica se redujo de 3,4% a 0% (11).

David et al. (27), reportaron 235 casos de criptococosis,

52 casos eran pacientes con trasplante de órganos sólidos, 107 tenían VIH y 76 no eran trasplantados ni presentaban infección por VIH, y 48% de los trasplantados presentaron meningitis criptocócica.

Epidemiología de la aspergilosis como causante de EFIs

La aspergilosis invasora (AI) es un problema en ascenso en pacientes con el Virus de Inmunodeficiencia Adquirida (VIH), así como pacientes trasplantados de órganos sólidos y neoplasias hematológicas, el principal agente fúngico involucrado es Complejo *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*), también se describen casos por Complejo *Aspergillus flavus* y *Aspergillus terreus* (12, 28); en un estudio sobre la epidemiología y la evolución de las EFIs en pacientes con receptores de órganos sólidos adultos en 17 centros asistenciales norteamericanos de trasplante, presentaron 515 episodios de micosis invasoras, *Candida* ocupó el primer lugar con un 59%, seguida de *Aspergillus* con un 24,8%, *Cryptococcus* un 7% y otros hongos de diferentes especies un 5,8% (28). La supervivencia sobre todo en pacientes oncohematológicos y en trasplantados de órganos sólidos debido a mejoras en los normas de acondicionamiento, diagnóstico y profilaxis han ido en aumento, pero las tasas de mortalidad por *Aspergillus* spp., van de 35-95% (6). La incidencia de aspergilosis invasora oscila de 2,6% al 6,9%, pero en América Latina no son muchos los datos que se disponen sobre esta enfermedad. En una encuesta prospectiva en receptores hematológicos y pacientes con leucemia mieloide aguda en 8 centros de salud en Brasil, la mayoría recibió profilaxis con fluconazol; 460 pacientes, 30 (6,5%) padeció de aspergilosis invasora y su prevalencia fue mayor en los pacientes con leucemia mieloide aguda (2,11). En México durante los años 1976 a 1990, mediante estudios histológicos se demostraron 5 muertes a causa de aspergilosis invasora en 925 pacientes pediátricos. Mediante autopsia otro estudio en Cuba (1986-1997), demostró que de 307 pacientes con SIDA, 7 (2,2%) fue debido a aspergilosis invasora. En 2 hospitales de Sao Paulo, Brasil (1993-1998), 64 receptores de médula ósea, recibieron profilaxis con fluconazol, 5 desarrollaron EFI; 2 (5%) tuvieron aspergilosis invasora (11). El pronóstico de la aspergilosis invasora va a depender más del estado real del sistema inmunológico del paciente y otros factores clínicos asociados, que de la virulencia o resistencia de este hongo a los antifúngicos.

Un diagnóstico precoz mediante la utilización del test para la detección del Galactomanano aumentaría la sobrevivencia en la AI (12).

El complejo *A. fumigatus* es más frecuente en receptores de órganos sólidos, por lo que la AI es más frecuente en pacientes con trasplante pulmonar que la candidiasis (12, 28). En pacientes trasplantados de riñón y páncreas la aspergilosis varía de 0,4-5%, en trasplantes de corazón e hígado puede ir desde 1-8% y 1-14% respectivamente. Y más común en trasplantados de pulmón donde se presenta de 6-16%. (12).

Epidemiología de otros hongos oportunistas como causantes de EFIs

Las EFI causadas por hongos hialinos como *Fusarium* spp., y *Scedosporium* spp., son más frecuentes de lo que imaginamos, sobre todo en pacientes con hematopatías, receptores de trasplante hematológico y de órganos sólidos. Se describe que los complejos de *Fusarium solani* (50%), *Fusarium oxysporum* (20%), *Fusarium verticillioides* (10%) y *Fusarium moniliforme* (10%) son los más aislados como causantes de EFIs. De igual manera *Scedosporium apiospermum* y *Scedosporium prolificans* también son los más aislados, después de *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. Estos dos géneros diferentes a *Aspergillus* spp., se pueden aislar con facilidad de muestras provenientes de hemocultivos, calculando una infección diseminada de 75% para la fusariosis y 40% para la scedosporiosis. La mortalidad por *Scedosporium* spp., puede alcanzar un 78% en pacientes con receptores de médula ósea y trasplantados de órganos sólidos (3). Un estudio realizado con 84 pacientes hematológicos, 30 presentaron fusariosis y 18 fueron por Complejo *Fusarium solani*, solo 21 sobrevivieron al cumplir 90 días después del diagnóstico (29).

Las hialohifomicosis, además de incluir las especies de hongos descritas anteriormente, agrupan un determinado número de otras especies que no representan un determinado síndrome clínico, sino que las causas son muy heterogéneas, encontrándose ciertos hongos saprófitos y fitopatógenos, su puerta de entrada puede ser inhalatoria o cutaneomucosa (8, 11,30). Este tipo de hongos puede causar micosis cutáneas y subcutáneas, queratitis, sinusitis como también micosis sistémicas, entre ellos tenemos: *Scopulariosis brevicaulis*, *Acremonium* spp., *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma* spp. y *Penicillium* spp. (31).

La zigomicosis es una enfermedad micótica oportunista, comprende 11 órdenes y solo 2 son de importancia

médica: Mucorales y Entomophthorales. Son hialinos, cenocíticos, son saprófitos de la tierra, en desechos vegetales y en la biota anemófila. Su forma de contagio puede ser por inhalación, inoculación directa e ingestión. Trasciende diseminación hematogena desde cualquier foco primario de infección, debido a que tiene tropismo por los vasos sanguíneos (30,31, 32).

Los factores de riesgo bien conocidos como las neoplasias hematológicas, la neutropenia, tratamiento con inmunosupresores, trasplante de órgano sólido y de progenitores hematopoyéticos, quemaduras, traumatismos, malnutrición, entre otros son propensos a este tipo de infecciones micóticas que engloba a los géneros *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Absidia*, *Apophysomyces*, *Cunninghamella* y *Saksenaea*, produciendo invasión vascular con necrosis tisular; esta enfermedad es letal (32,33). Un metanálisis donde incluyeron 929 casos de zigomicosis, las más frecuentes fueron la rinosinusal con un 39%, pulmonar con 24% y cutánea 19%; la enfermedad diseminada se presentó en un 23% de los casos. La mortalidad general de estos pacientes fue del 54% con afectación diseminada y causada por *Cunninghamella* spp., (34).

Un interesante estudio prospectivo en 23 centros estadounidenses, encontraron que en 1.208 pacientes con trasplante de órganos sólidos, 1.063 presentaron una EFI, reportando un 53% de candidiasis seguida de un 19% de aspergilosis, 8% de criptococosis, 8% de hialohifomicosis y feohifomicosis, 5% de micosis endémicas y 2% de mucormicosis (35).

Las EFIs causadas por feohifomicosis u hongos dematiáceos no son muy comunes en infecciones clínicas (33), pero un estudio de un año de duración 1996-1997 en Río de Janeiro Brasil, se produjeron 23 casos de fungemias causadas por *Exophiala jeanselmei* (fuente causal por agua contaminada del hospital) (11). En pacientes inmunodeprimidos, sobre todo en receptores de trasplante de médula ósea, la mayoría de casos descritos son infecciones de piel y tejidos blandos. Un estudio retrospectivo en 34 pacientes trasplantados, la infección por hongos dematiáceos fue del 79% afectando piel, tejidos blandos y hueso, mientras que el 21% presentó diseminación sistémica afectando principalmente el sistema nervioso central, dicha infección comenzó 22 meses después de haber sido trasplantados (36). Cabe destacar que el tratamiento de estas micosis todavía no está muy claro (33).

Otro hongo oportunista atípico con una importante relevancia clínica es *Pneumocystis jirovecii* el cual

es causante de neumonía o neumocistosis, (37). Actualmente la neumocistosis presenta una incidencia de 9,5 episodios por 100 personas al año en pacientes infectados por el VIH; se observa en más de 50 % de los pacientes con sida (38). Esta infección se desarrolla también en pacientes con cáncer, ciertas enfermedades autoinmunes, pacientes con artritis reumatoide y quienes han están en tratamiento intensivo con esteroides (8, 37,39). En Venezuela Cermeño et al. (40); en un estudio en el oriente del país reportaron en pacientes con VIH (15%; n=6), con insuficiencia renal crónica (5%; n=2), trasplante renal (2.5%; n=1) y neumopatía crónica (12.5%; n=5). Panizo et al. (41) describe la detección de un 38% de *Pneumocystis jirovecii* en pacientes con cáncer, 36,6% en pacientes con Sida y un 10,4% en pacientes con infección respiratoria baja. Otros estudios venezolanos en pacientes con cáncer demostraron la enfermedad en un 25% y 52% (42,43).

Conclusiones

La evolución de la epidemiología de las micosis en especies de *Candida*, hongos filamentosos y oportunistas causantes de EFIs, va a depender de las diversas patologías clínicas, que se han incrementado en los últimos años, existiendo una variante en el agente fúngico de acuerdo a los diversos lugares hospitalarios. Las EFIs actuales presentan características y condiciones diferentes a las de hace un par de décadas, en el tiempo de duración de las mismas, los factores de riesgo, los antimicrobianos existentes y la susceptibilidad. Se deben plantear nuevas estrategias epidemiológicas que conduzcan a aumentar la profilaxis empírica más apropiada para las especies fúngicas que predominen en cada institución de salud. Por eso es importante conocer la epidemiología de cada centro hospitalario para este tipo de hongos causantes de EFIs y de esta manera poder contribuir en el diagnóstico y manejo terapéutico de estos hongos. El conocimiento de estas micosis, su diagnóstico e instauración precoz del tratamiento contribuirán a una disminución de la mortalidad por estos hongos, dependiendo del agente etiológico y los factores de riesgo en cada paciente.

Referencia

- Guarro Josep. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 30(1):33-39.
- Nucci M, Marr K.A. Emerging fungal disease. *Clin Infect Dis* 2005;41:521-526.
- Pemán, J. Salavert, M. Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongo Filamentosos y levaduras. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013;31(5):328-341.
- Wisplinghoff H. Bischoff T. Tallent S. Seifert H. Wenzel R. Edmon M. Nosocomial bloodstream Infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:309-317.
- Salavert M, Jarque I, Pemán J. Los aspectos epidemiológicos cambiantes de la candidemia y sus implicaciones clínicoterapéuticas *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24:36-45.
- Pemán, J. Aspectos epidemiológicos de las micosis en el paciente crítico. *Rev Esp Quimioter* 2008; 21 (Núm Ext 1): 7-8.
- Pfaller M.A, Diekema D.J. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clin Microbiol Rev* 2007;20(1):133-163.
- García-Ruiz J, Amutio E y Pontón J. Infección fúngica invasora en pacientes inmunodeficientes. *Rev Iberoam Micol* 2004;21:55-62.
- McNeil M, Nash S, Haijeh R, Phelan M, Conn L, Plikaytis B. Trends in mortality due to invasive mycotic diseases in the United States, 1980-1997. *Clin Infect Dis* 2001;33:641-647.
- Arendrup MC, Fursted K, Gahrn-Hansen B, Schonheyder H, Knudsen J, Jensen I. Semi-national surveillance of fungemia in Denmark 2004-2006; in creasing incidence of fungemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:487-494.
- Nucci M, Queiroz-Tellez F, Tobón A, Restrepo A, and Colombo A. Epidemiology of Opportunistic Fungal Infections in Latin America. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 51(5):561-570.
- Quindós G. Candidiasis, aspergilosis y otras micosis invasoras en receptores de trasplante de órgano sólido. *Rev Iberoam Micol* 2011;28(3):110-119.
- Almirante B, Rodriguez D, Park B.J, Cuenca-Estrella M, Planes A.M, Almela M, et al, and the Barcelona Candidemia Project Study Group. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol* 2005;43:1829-1835.
- Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouer SA, Arthington-Skaggs B, et al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical center. *J Clin Microbiol* 2006;44:2816-2328.
- Nucci M, Queiroz-Telles F, Alvarado-Matute T, Tiraboschi I, Cortes J, Zurita J, et al. Epidemiology of candidemia in Latin America: a laboratory-based survey. *PLoS One*. 2013; 8:e59373. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3601956/>. Acceso: 5 de marzo de 2015.
- Dolande ME, Reviákina V, Panizo MM, Macero C, Moreno X, Calvo A, y col. Distribución y sensibilidad a

- los antifúngicos de aislamientos clínicos de *Candida* en seis centros de salud del área metropolitana de Caracas-Venezuela (Años 2003-2005). *Rev Iberoam Micol* 2008;25:17-21.
17. Moreno X, Macero C, Grau G, Camacho D, Camacho G. Actualización de los nuevos puntos de corte frente a los antifúngicos según el CLSI en candidemias del IMLF. X Congreso Venezolano de Infectología. XIV Jornadas Centro-Occidentales de Infectología 2012; Barquisimeto-Venezuela.
 18. Panizo MM, Reviakina V, Dolande M, Selgrad S. *Candida* spp. in vitro susceptibility profile to four antifungal agents. Resistance surveillance study in Venezuelan strains. *Med Mycol* 2009;47:137-143.
 19. Dolande ME, Panizo M, Reviakina V, Ferrara G, Moreno X, Macero C, y col. Candidemia en Venezuela. Red de Vigilancia a los Antifúngicos. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Caracas-Venezuela. XVII Jornadas Nacionales y XV Zulianas de Infectología. *Bol Venez Infectol* 2009;20:63.
 20. Calvo B, Mesa L, Peroso A, Pineda M, Beltrán-Luengo H. Cambios en la distribución de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos en pacientes del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela. *Kasmera* 2010;38:106-117.
 21. Moreno X, Martínez G, Macero C. Complejo *Candida* parapsilosis como principal agente causal de fungemias en el Instituto Médico La Floresta. Caracas-Venezuela. Memorias del VIII Congreso Latinoamericano de Micología, Medellín, Colombia, 2014. *Actualidades Biológicas* 2014;36(Suppl 1):371.
 22. Arenas R. *Micología Médica Ilustrada*. 4ª. Ed. McGraw-Hill-Interamericana, México, DF, 2011.
 23. Meyer W, Castañeda A, Jackson S, Hyunh M, Castañeda E. Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates. *Emerg Infect Dis* 2003;9:189-195.
 24. Singh N, Alexander B, Lortholary O, Dromer F, Gupta K, John G, del Busto R, Klintmalm G, et al., and the Cryptococcal Collaborative Transplant Study Group *Cryptococcus neoformans* in Organ Transplant Recipients: Impact of Calcineurin-Inhibitor Agents on Mortality. *J Infect Dis* 2007;195:756-64.
 25. Rees J, Pinner R, Hajjeh R, Brandt M, Reingold A. The epidemiological features of invasive mycotic in the San Francisco Bay area. 1992-1993: results of population-based laboratory active surveillance. *Clin Infect Dis* 1998;27:1138-47.
 26. Pappalardo CSM, Melhem MSC. Cryptococcosis a review of the Brazilian experience for the disease. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2003;45:299-305.
 27. Davis J, Horn D, Marr K, Fishman J. Central nervous system involvement in cryptococcal infection in individuals after solid organ transplantation or with AIDS. *Transpl Infect Dis* 2009;11:432-437.
 28. Neofytos D, Fishman J, Horn D, Anaissie E, Chang C, Olyaei A. Epidemiology and outcome of invasive fungal Infections in solid organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2010;12:220-229.
 29. Nucci M, Anaissie E, Queiroz-Tellez F, et al. Outcome predictors of 84 patients with hematologic malignancies and *Fusarium* infection. *Cáncer* 2003;315-319.
 30. Cuenca-Estrella M, Berenguer J. Infecciones por *Fusarium* y *Scedosporium*. Otras hialohifomicosis y feohifomicosis. En: Ausina Ruiz V, Moreno Guillén S, editores. *Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*. 1ª ed. Madrid: Editorial Panamericana; 2006. P.653-663.
 31. Afeltra J. Micosis oportunistas I. 8/20/2012. Disponible en: www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/teo2010.pdf. Acceso: 30 de abril de 2015.
 32. Prabhu RM, Patel R. Mucormycosis and entomophthoromycosis: a review of the clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Clin Microbiol Infect* 2004;10 Suppl 1:31-47.
 33. Castón JJ, Rivero A, Torre-Cisneros J. Espectro y factores de riesgo de la infección fúngica invasora. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007;25(7):467-76.
 34. Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, Knudsen TA, Sarkisova TA, Schaufele RL, et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: a review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis* 2005;41:634-653.
 35. Pappas P, Alexander B, Andes D, Hadley S, Kauffman C, Freifeld A and et al. Invasive fungal Infections among organ transplant recipients: results of the Transplant-Associated Infections Surveillance Network (TRANSNET). *Clin Infect Dis* 2010;50:1101-1111.
 36. Singh N, Chang F, Gayowski T, Marino J. Infection due to dematiaceous fungi in organ transplant recipients: case report and Review. *Clin Infect Dis* 1997;24:369-374.
 37. Calderón E, de Armas Y, Capó de Paz V. *Pneumocystis jirovecii* cien años de historia. *Rev Cubana Med Trop* 2011;63(2):97-116.
 38. Russian DA, Levine SJ. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients without HIV infection. *Am J Med Sci* 2001;321(1):56-65.
 39. Sepkowitz KA. Opportunistic infections in patients with and patients without acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 2002;34(8):1098-1107.
 40. Cermeño J, Hernández de Cuesta I, Alcalá F, Áppice M. *Pneumocystis jirovecii* en centros hospitalarios del Estado Bolívar, Venezuela. *Rev Biomed* 2006;17:169-174.
 41. Panizo MM, Reviakina V, Navas T, Casanova K, Sáez A, Guevara N, Cáceres A, Vera R, Sucre C, Arbona E. Neumocistosis en pacientes venezolanos: diagnóstico y epidemiología (2001-2006). *Rev Iberoam Micol* 2008;25:226-231.
 42. Moreno X, Reviakina V, Panizo M, León M. Diagnóstico de neumocistosis en pacientes oncológicos por la técnica de inmunofluorescencia directa. *Rev Venez Oncol* 2010; 22(4):222-231.
 43. Moreno X, Macero C, Camacho G, León M, Cáceres A, Guzmán M, Figuera M. *Pneumocystis* in cancer patients by direct immunofluorescence. *Mycoses-ISHAM* 2012; 55(4):P341.

AGRADECIMIENTO PARA LOS ÁRBITROS DE 2014

La contribución de los árbitros es esencial para mantener y mejorar la calidad de los trabajos publicados en la revista Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas. Por esta razón queremos expresar nuestro más sincero agradecimiento a los colegas quienes han dedicado tiempo y esfuerzo para el arbitraje de los trabajos publicados en nuestra revista durante el año 2014.

Ana Zita Fernández

Arelis Torres

Celsy Hernández

Clara Martínez

Edith Ortega

Francisco Hernández

Giuseppe Ferrara

Hilda Stekman

Jenny Figueira

Martha Bravo

María Del Pilar Navarro

Matilde Medina-Martel

Mercedes Fernández

Merlyn Vívenes

Noel Silva

Priva Zabner De Oziel

Rafael Apitz

Yacelly Bustamante

ÍNDICE POR AUTORES AÑO 2014

- A**
 Angulo, Johana
 véase Ferraz, Sabrina 2014;17(1):44-50
 Arends, Anabel
 véase Ferraz, Sabrina 2014;17(1):44-50
 Araujo, Verónica
 véase Ferraz, Sabrina 2014;17(1):44-50
- B**
 Bello, Isis
 véase Medina-Martel, Matilde 2014;17(2):66-74
 Bravo, Martha
 véase Ferraz, Sabrina 2014;17(1):44-50
 Briceño, Marlene
 véase Medina-Martel, Matilde 2014;17(2):66-74
- C**
 Carrero, Yenny
 véase Garcés, María Fátima 2014;17(1):17-26
 Casadiegos, Fariel
 véase Medina-Martel, Matilde 2014;17(2):66-74
 Chacín, Marycarmen
 véase Ferraz, Sabrina 2014;17(1):44-50
- D**
 De La Torre, Beatriz
 véase Hernández, Celsy 2014;17(1):12-16
- F**
 Ferraz, Sabrina
 Análisis de polimorfismos genéticos de Glutación S-Transferasa: GSTM1 y GSTT1 en pacientes venezolanos con leucemia 2014;17(2):44-50
 Fernández, Mercedes
 véase González, Lenitza 2014;17(2):51-58
- G**
 Garcés, María Fátima
 Editorial 2014;17(1):2
 Triacilglicéridos postprandiales: importancia. ¿Cómo medirlos? 2014;17(1):17-26
 Editorial 2014;17(2):43
 véase Hernández, Celsy 2014;17(1):12-16
 véase González, Lenitza 2014;17(2):51-58
- González Lenitza
 Biomarcadores serológicos en el inmunodiagnóstico de la condición celíaca 2014;17(2):51-58
 Guarín, Yamil Adrián
 véase Garcés, María Fátima 2014;17(1):17-26
- H**
 Hernández, Celsy
 Estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis, en el laboratorio clínico de rutina 2014;17(1):12-16
 véase Garcés, María Fátima 2014;17(1):17-26
- J**
 Jiménez, Engelbert
 véase Medina-Martel, Matilde 2014;17(2):66-74
- M**
 Macero, Carolina
 véase Moreno, Xiomara 2014;17(2):59-65
 Martínez, Gustavo
 véase Moreno, Xiomara 2014;17(2):59-65
 Medina-Martel, Matilde
 Evaluación de estrés académico, cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival en estudiantes de Bioanálisis de la UCV 2014;17(2):66-74
 Mejías Martínez, Marcel
 Evaluación de los criterios de confiabilidad para la determinación automatizada de glucosa: comparación de glucosa oxidasa y hexoquinasa 2014;17(1):2-11
 Méndez Laya, Adriana
 véase Mejías Martínez, Marcel 2014;17(1):2-11
 Moreno, Anyella
 véase Mejías Martínez, Marcel 2014;17(1):2-11
 Moreno, Xiomara
 Hongos filamentosos patógenos y emergentes en el Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta. Caracas-Venezuela 2014;17(2):59-65
 Epidemiología de las enfermedades fúngicas invasoras 2014;17(2):75-80
- N**
 Núñez, María Luisa
 véase Garcés, María Fátima 2014;17(1):17-26

P

Palencia, Aura

Marcadores de exposición y efecto al humo de tabaco ambiental 2014;17(1):27-35

R

Rivas, Adriana

véase Garcés, María Fátima 2014;17(1):17-26

Romero, Gabriela

véase Palencia, Aura 2014;17(1):27-35

Rodríguez, Valmore

Vida y obra de Rafael Rangel 2014;17(1):36-40

S

Stekman, Hilda

véase Hernández, Celsy 2014;17(1):12-16

véase Garcés, María Fátima 2014;17(1):17-26

V

Vargas, Maritza

véase Palencia, Aura 2014;17(1):27-35

Villasmil, Josefa

véase González, Lenitza 2014;17(2):51-58

ÍNDICE POR TITULOS 2014

- A**
Análisis de polimorfismos genéticos de Glutación S-Transferasa: GSTM1 y GSTT1 en pacientes venezolanos con leucemia. 2014;17(2):44-50
- B**
Biomarcadores serológicos en el inmunodiagnóstico de la condición celíaca. 2014;17(2):51-58
- E**
Epidemiología de las enfermedades fúngicas invasoras 2014;17(2):75-80
Estandarización de la fase preanalítica del uroanálisis, en el laboratorio clínico de rutina. 2014;17(1):12-16
Evaluación de estrés académico, cortisol sérico y actividad de α -amilasa salival en estudiantes de Bioanálisis de la UCV. 2014;17(2):66-74
- Evaluación de los criterios de confiabilidad para la determinación automatizada de glucosa: comparación de glucosa oxidasa y hexoquinasa . 2014;17(1):2-11
- H**
Hongos filamentosos patógenos y emergentes en el Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta. Caracas-Venezuela. 2014;17(2):59-65
- M**
Marcadores de exposición y efecto al humo de tabaco ambiental. 2014;17(1):27-35
- T**
Triacilglicéridos postprandiales: importancia. ¿Cómo medirlos? . 2014;17(1):17-26
- V**
Vida y obra de Rafael Rangel. 2014;17(1):36-40

ÍNDICE PALABRAS CLAVES AÑO 2014

A		Examen directo	2014;17(2):59-65
Aductos	2014;17(1):27-35	Patógenos y Emergentes	2014;17(2):59-65
Amilasa salival	2014;17(2):59-65	Humo de tabaco	2014;17(1):27-35
Anticuerpos	2014;17(1):27-35	Biomarcadores	2014;17(1):27-35
anti-DPG IgA/IgG	2014;17(1):27-35	I	
anti-gliadina IgA/IgG	2014;17(1):27-35	Índices aterogénicos	2014;17(1):12-16
Aterosclerosis	2014;17(1):12-16	Inmunodiagnóstico	2014;17(2):51-58
C		L	
Calidad	2014;17(1):12-16	Leucemia	2014;17(2):44-50
Confiabilidad analítica	2014;17(1):2-11	P	
Condición celíaca	2014;17(1):27-35	Padre del Bioanálisis	2014;17(1):36-40
Biomarcadores	2014;17(1):27-35	Polimorfismos	2014;17(2):44-50
Cortisol sérico	2014;17(2):59-65	Glutation S-transferasa	2014;17(2):44-50
Cotina	2014;17(1):27-35	R	
E		Riesgo cardiovascular	2014;17(1):12-16
Enfermedad fúngica invasora	2014;17(2):75-80	Rafael Rangel	2014;17(1):36-40
Epidemiología	2014;17(2):75-80	investigador	2014;17(1):36-40
Hongos filamentosos	2014;17(2):75-80	T	
Hongos levaduriformes	2014;17(2):75-80	Tioéteres	2014;17(1):27-35
Estrés académico	2014;17(2):66-74	U	
Evaluación del desempeño	2014;17(1):2-11	Uroanálisis	2014;17(1):12-16
G		Estandarización	2014;17(1):12-16
Glucosa	2014;17(1):2-11	Fase preanalítica	2014;17(1):12-16
H		Calidad	2014;17(1):12-16
1-Hidroxipireno	2014;17(1):27-35	Laboratorio clínico	2014;17(1):12-16
Hongos filamentosos	2014;17(2):59-65	V	
Epidemiología	2014;17(2):59-65	Verificación	2014;17(1):2-11

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES

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 Claves 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: Establezca los objetivos del estudio, los procedimientos básicos (selección, métodos de observación y análisis), los hallazgos más importantes, proporcionar datos específicos, 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 claves, 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, teniendo 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. Evite 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 actualizadas 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. Numérelas 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. Enumere 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.

Para otros ejemplos de formato de referencias bibliográficas, los autores deberían consultar la página web: 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.

Artículo de revisión:

El artículo de revisión facilita la actualización y revisión de un aspecto científico, realizado por especialistas en el área: ofreciendo al lector interesado una información condensada sobre un tema, realiza interpretaciones y adelanta explicaciones en tópicos específicos relacionados con el Bioanálisis.

El número máximo de autores es cuatro. El artículo requiere de, al menos, 40 referencias con prioridad de los últimos cinco (5) años. En caso de que esto no sea posible, deben especificarse las razones (tópicos muy poco frecuentes o muy poco investigados previamente). El texto deberá expresar con claridad las ideas a ser desarrolladas, y tratará de transmitir un mensaje útil para la comprensión del tema central del artículo de revisión.

Las secciones básicas del artículo de revisión son: página inicial, resumen, (en español y en inglés), introducción, texto, referencias bibliográficas. El cuerpo de las revisiones es libre, aunque es conveniente subdividirlo en secciones.

El autor o los autores de un artículo de revisión deben plasmar su interpretación crítica de los resultados de la revisión bibliográfica con claridad y precisión, y dejar siempre la inquietud sobre aquellos tópicos del tema que requieren una mayor o más profunda investigación. La extensión de los artículos de revisión no debe ser mayor de 6000 palabras, excluyendo las referencias.



Acta Científica

de la Sociedad Venezolana
de Bioanalistas Especialistas

CONTENTS

Vol. 17 - No 2

2014

EDITORIAL

María Fátima Garcés..... 43

ORIGINAL ARTICLES:

Analysis of genetic polymorphisms of Glutathione S-Transferase: GSTM1 and GSTT1 in Venezuelan patients with leukemia

Sabrina Ferraz, Marycarmen Chacín, Johana Angulo, Verónica Araujo, Martha Bravo y Anabel Arends..... 44

Serological biomarkers for immunodiagnosis of celiac disease

Lenitza González, M^a Fátima Garcés, Mercedes Fernández, Josefa Villasmil 51

Filamentous fungi and emerging pathogens in the Department of Microbiology Medical Institute Florest. Caracas-Venezuela

Xiomara Moreno, Gustavo Martínez, Carolina Macero,..... 59

Evaluation of academic stress, serum cortisol and salivary α -amylase in UCV Bioanalysis students

Matilde Medina-Martel, Engelbert Jiménez, Isis Bello, Fariel Casadiegos, Marlene Briceño..... 66

REVIEW ARTICLE:

Epidemiology of invasive fungal diseases

Xiomara Moreno 75

ACKNOWLEDGMENT FOR REFEREES IN 2014 81

CUMULATIVE INDEX BY AUTHORS..... 82

CUMULATIVE INDEX BY TITLES..... 84

CUMULATIVE INDEX BY KEY WORDS..... 85

INFORMATION FOR AUTHORS..... 86

Diseño y diagramación: Ana María Reyes, digivi@gmail.com

Impresión: Operagráfica Publicidad, c.a., operapublicidad@gmail.com

Soporte Web: Nexus Radical, Altamar Pérez, aperez@estudiopro.com