

## Revisiones

- Diagnóstico de la infección por el virus de la Hepatitis C (HCV)

Pag. 4

## El laboratorio práctico

- PCR ultra sensible  
Recomendaciones para la evaluación de PCR como marcador de riesgo cardíaco.

Pag. 6

## Novedades y Agenda

- Niveles de calcio sérico ligados a elevada mortalidad en pacientes con deficiencia renal no dializados.
- También en veterinaria... Monitoreo de intoxicación de ganado por determinación de colinesterasa sérica

Pag. 8

## Artículos de investigación

### Diagnóstico de Preeclampsia: más que proteinuria e hipertensión

Darci R. Block, PhD, and Amy K. Saenger, PhD  
Clinical Laboratory News – Febrero 2010

La preeclampsia es un desorden multi-sistémico caracterizado por la presencia de hipertensión y proteinuria luego de las 20 semanas de gestación. Este desorden es responsable del 15% de los nacimientos prematuros y el 18% de las muertes maternas.

Otros riesgos asociados con la preeclampsia incluyen desprendimiento de placenta, insuficiencia renal o hepática, coagulación intravascular diseminada complicaciones cardiovasculares y convulsiones. La incidencia de nacimientos antes de tér-

mino es mayor en mujeres con preeclampsia, en principio debido a los intentos de los obstetras de minimizar los riesgos tanto para la madre como para el feto recurriendo a una inducción prematura del parto. Sin embargo, el recién nacido prematuro debe afrontar también riesgos y complicaciones. Por ejemplo tienen mayor probabilidad de desarrollar síndrome de distrés respiratorio, desórdenes neurológicos y retrasos en el desarrollo. En las mujeres cuya preeclampsia está causada por anomalías de la placenta, puede ocurrir una restricción en el crecimiento

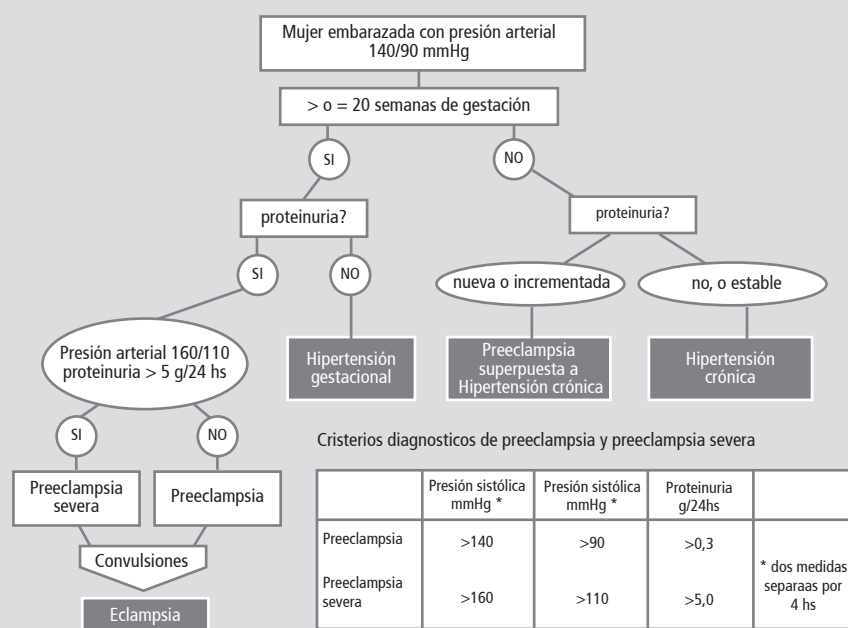
intrauterino del feto, conduciendo a una mayor prevalencia de asfixia intrauterina y desprendimiento de placenta.

A pesar de estar bien caracterizada como una complicación del embarazo, todavía existen puntos desconocidos relacionados con la predicción, el diagnóstico y la fisiopatología de la preeclampsia, lo que la llevó a ser llamada la "enfermedad de las teorías". Los esfuerzos por disminuir los riesgos asociados con la preeclampsia han sido enfocados en el diagnóstico temprano de este desorden. Los nuevos biomarcadores para predicción y posiblemente prevención de la preeclampsia promete dar al laboratorio un mayor rol en el cuidado de las mujeres de riesgo. En el presente trabajo se describe la etiología de la preeclampsia, las pruebas actuales para la mujer de riesgo y cómo los biomarcadores aparecen en el horizonte futuro para un mayor involucramiento del laboratorio en la predicción de esta condición.

### Factores de riesgo de preeclampsia

Los factores de riesgo epidemiológicos y clínicos para la aparición de preeclampsia se clasifican como: maternos, paternos y/o embarazo-específicos (tabla 1). Una hipótesis concerniente a la etiología de la preeclampsia es que es un desorden auto-inmune y puede reflejar inmadurez del sistema inmune materno para responder

Figura 1 Desórdenes del embarazo relacionados con la hipertensión



adecuadamente al embarazo. Esta hipótesis se origina del hecho de que la frecuencia de preeclampsia es mayor en mujeres nulíparas, mujeres que han concebido por técnicas reproductivas asistidas, y mujeres con condiciones autoinmunes previas.

Además, las condiciones metabólicas, renales o vasculares preexistentes aumentan el riesgo de preeclampsia debido a un stress fisiológico del embarazo, combinado con una disfunción endotelial ampliamente generalizada. Las mujeres obesas se encuentran en mayor riesgo de desarrollar preeclampsia que las delgadas, así como las que presentan hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

Se ha observado que el uso de bajas dosis de aspirina en estas mujeres reduce en parte el riesgo y la mortalidad perinatal, pero no reduce el riesgo de desprendimiento de placenta o de recién nacidos de bajo peso. Los investigadores han estudiado también la administración de vitaminas C y E y de suplementos de calcio en poblaciones de alto y bajo riesgo, pero no encontraron evidencias de que estos suplementos nutricionales redujeran la prevalencia de preeclampsia, eclampsia o hipertensión. Además, los estudios sobre prevención de preeclampsia han producido hasta ahora resultados desalentadores quizás por una falta de conocimiento de los mecanismos causales de la enfermedad.

### Fisiopatología de la preeclampsia

Los conceptos actuales y teorías de la fisiopatología de la preeclampsia se desarrollan alrededor de la disfunción de las células endoteliales, las cuales son originariamente placentarias pero luego se extienden a otros órganos como cerebro, hígado y riñones. La hipótesis más antigua se enfoca en la implantación de la placenta y en la invasión trofoblástica y tubo origen luego de haber observado que tras la expulsión de la placenta reversion rápidamente las manifestaciones clínicas de la preeclampsia y eclampsia en la mayoría de los pacientes. También debe tenerse en cuenta como factor de desarrollo de preeclampsia una adaptación defectuosa entre madre y feto.

En el embarazo normal, la conexión materno fetal y el flujo sanguíneo se establece en forma muy rápida luego de la concepción. Una implantación apropiada de

la placenta permite una circulación adecuada entre madre y feto y ocurre cuando las células trofoblásticas de la placenta invaden las arterias helicoidales del endometrio, produciendo la pérdida del músculo liso, permitiendo la expansión de la capacidad vascular y la angiogénesis. En pacientes preeclámpticas la implantación de la placenta puede ser disfuncional, de manera que las arterias helicoidales se remodelan en forma pobre, resultando en una circulación inadecuada entre la placenta y el útero y finalmente una implantación superficial.

Esta pérdida de perfusión o isquemia, se piensa que induce la mayoría de las disfunciones endoteliales y conduce al desarrollo de alteraciones en otros órganos (sistemas cardiovascular y renal). Por esto, a pesar de que los cambios endoteliales están originados en la placenta, las consecuencias de la disminución de la perfusión se extiende a todos los órganos. El flujo sanguíneo puede verse comprometido por activación de la cascada de la coagulación y la formación de microtrombos.

La severidad de los síntomas también proveyó indicios acerca de la fisiopatología de este desorden.

La preeclampsia diagnosticada en los primeros meses de embarazo, antes de la semana 34 de gestación, tiene altas probabilidades de anomalías placentarias y restricciones en el crecimiento intrauterino del feto. Sin embargo, la mayoría de los casos de preeclampsia son de aparición tardía diagnosticados luego de la semana 34 y notablemente carecen de anomalías placentarias y complicaciones adversas mayores.

### Diagnóstico y pruebas de laboratorio

Los obstetras diagnostican la preeclampsia normalmente luego de 20 semanas de gestación. La aparición de hipertensión materna y la proteinuria, en algunos casos acompañada de edema, son disparadores del diagnóstico.

La preeclampsia severa se reconoce por una mayor magnitud en el aumento de la presión sanguínea y un mayor grado de proteinuria. Otra manifestación clínica de la preeclampsia severa incluye la oliguria, disturbios cerebrales o de la visión, y edema pulmonar. Mientras que la presencia de hipertensión siempre es el primer signo de preeclampsia, la hipertensión sola no define el desorden.

La evolución patogénica y progreso del desorden probablemente se origina poco después de la concepción y la hipertensión resulta elevada más adelante en el curso del embarazo.

El American Collage of Obstetricians and Gynecologists establece cuatro clasificaciones mayores de los desórdenes del embarazo relacionados con la hipertensión. Estos desórdenes incluyen hipertensión crónica, preeclampsia, preeclampsia superpuesta a una hipertensión crónica e hipertensión gestacional. Fig 1.

La hipertensión crónica no se relaciona con el embarazo de por sí, y se diagnostica si existe una condición de hipertensión preexistente documentada antes de la semana 20 de embarazo, o si la hipertensión persiste luego de 12 semanas luego del parto. La preeclampsia se define como la hipertensión y proteinuria luego de 20 semanas de gestación, mientras que la eclampsia es la progresión severa y complicación de la preeclampsia y se percibe por el comienzo de convulsiones en la paciente. El cuadro completo de eclampsia se calcula en el 1% de las pacientes preeclámpticas.

La preeclampsia superpuesta con una hipertensión crónica se caracteriza por un aumento de la proteinuria o por un incremento en la concentración de proteínas y si ésta ya está presente, un marcado aumento de la hipertensión o el desarrollo de un síndrome HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas elevadas, recuento de plaquetas bajo). Las pacientes pueden tener también hipertensión gestacional. Esta condición se diagnostica cuando existe hipertensión materna documentada sin la presencia de proteinuria y la hipertensión cesa 12 semanas después del parto. Sin embargo, el 25% de las mujeres con hipertensión gestacional evolucionan hacia el desarrollo de proteinuria y preeclampsia.

Corrientemente, el diagnóstico terapéutico y el monitoreo de la preeclampsia no involucra biomarcadores sanguíneos específicos y sensibles. Las pruebas de laboratorio utilizadas para monitorear esta condición aparecen listadas en la tabla 2. Sin embargo, la búsqueda de marcadores diagnósticos novedosos para esta alteración del embarazo ha sido objeto de continua investigación. En la actualidad existen varios biomarcadores promisorios en el horizonte que posiblemente darán un mayor rol al laboratorio.

### Biomarcadores emergentes

Las investigaciones han demostrado que la disfunción de células endoteliales produce un desequilibrio de factores pro- y anti-angiogénicos. Esto hace que los factores involucrados en el proceso de angiogénesis durante la formación e implantación de la placenta resultan buenos candidatos como biomarcadores.

Se han identificado varios factores circulantes que se encuentran relacionados con este proceso. Los factores pro angiogénicos incluyen : factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento placentar (PlGF), mientras que los factores anti-angiogénicos son la endoglina soluble y algunos receptores solubles de enzimas.

Expresados por la placenta, tanto el VEGF como el PlGF promueven la angiogénesis por interacción con el receptor para VEGF. Las concentraciones de PlGF aumentan significativamente durante el embarazo, incluso más que los VEGF. Varios estudios han demostrado que tanto los valores de PlGF como los de VEGF decrecen antes del comienzo de los síntomas clínicos de preeclampsia, a pesar de que la magnitud de la diferencia entre valores normales del embarazo y valores encontrados en la preeclampsia es mayor para PlGF que para VEGF. En particular, los investigadores sobre este tema encontraron que mujeres que han desarrollado preeclampsia mostraron reducciones en la concentración sérica de PlGF en el segundo trimestre del

embarazo.

En adición a estos factores de crecimiento placentario, se identificaron algunas proteínas antagonistas de los efectos de VEGF y PlGF. La sFlt-1, también conocida como factor soluble 1 circula en sangre y es capaz de unirse al VEGF y al PlGF, produciendo una función antagonista de la angiogénesis. Los estudios mostraron que el sFlt-1 se encuentra elevado en mujeres con preeclampsia comparado con los controles, y decrecen luego del parto.

La relación sFlt-1/PlGF es útil como índice de actividad anti angiogénesis, en el que se refleja tanto la disminución de PlGF como el aumento de sFlt-1 en la mujer preeclámpsica.

Algunos estudios han indicado que este índice puede predecir la preeclampsia 5 semanas antes que se presenten las manifestaciones clínicas.

Otro factor involucrado en la angiogénesis de la placenta es la endoglina soluble. (sEng) Esta proteína es una forma circulante de la endoglina que se expresa en el endotelio vascular y células trofoblásticas. En forma similar a la sFlt-1 la concentración de endoglina soluble se correlaciona con la ocurrencia y severidad de preeclampsia y vuelve a la normalidad después del parto. Los niveles de sEng han sido encontrados significativamente aumentados 3 meses antes del la aparición de proteinuria o hipertensión.

Los embarazos en los cuales existe una restricción del crecimiento intrauterina no relacionado con preeclampsia también han mostrado niveles elevados de sEng, lo que sugiere que este marcador podría no ser específico de preeclampsia sino más bien de una placenta disfuncional. Utilizando modelos animales se demostró que la inducción de complicaciones renales o hepáticas tal como ocurre en el síndrome HELLP se producen luego de la administración de sEng y sFlt-1, sugiriendo que las dos proteínas podrían tener una actividad sinérgica responsable de los casos más severos.

A pesar de que estas proteínas parecen tener importancia en la patogénesis de la enfermedad, no son suficientemente predictivas como para ser utilizadas en exclusividad. Basados en todos los hallazgos, parece probable que una combinación de estos marcadores mejoraría su utilidad como predictores.

Existen muchos otros biomarcadores que también parecen promisorios en la predicción y manejo de esta condición. Estos incluyen proteína placenta 13 (PP-13), la dimetilarginasa asimétrica (ADMA), Proteína A plasmática asociada al embarazo, autoanticuerpos contra el receptor de angiotensina II tipo 1., inhibina A, etc. Se necesitan estudios más avanzados para determinar el valor de cada uno de estos marcadores. ■

Tabla 1: Factores de riesgo de la preeclampsia

Factores maternos	
Inherentes	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Edad &lt; 20 o 35-40 años</li> <li>Nuliparidad</li> <li>Etnia negra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Antecedentes familiares o previos de preeclampsia o enfermedad cardiovascular</li> </ul>
Afecciones médicas	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Obesidad</li> <li>Hipertensión crónica</li> <li>Enfermedad renal crónica</li> <li>Diabetes mellitus (resistencia a la insulina, tipo 1 y gestacional)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos</li> <li>Enfermedades del tejido conectivo</li> <li>Trombofilia</li> <li>Estrés</li> </ul>
Específicas del embarazo	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Gestación múltiple</li> <li>Donación de ovocitos</li> <li>Infección de las vías urinarias</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Trastornos congénitos que afectan al feto: - Mola hidatiforme - Hidrops fetal - Anomalías estructurales</li> </ul>
Consideraciones paternas	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Exposición limitada al espermatozoides</li> <li>Anticoncepción de barrera</li> <li>Padre primerizo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inseminación de donante</li> <li>Persona que fue padre de otro embarazo con preeclampsia con otra mujer</li> </ul>
Adaptado de Dekker G, Sibai B. Prevención primaria, secundaria y terciaria de la preeclampsia. Lancet 2001; 357:209-15.	

Tabla 2: Análisis de laboratorio de preeclampsia y eclampsia

Evaluación de riesgo elevado de desarrollar preeclampsia	
Objetivo: establecer niveles iniciales al comienzo del embarazo y controlar la progresión de HELLP (hemólisis, enzimas hepáticas altas, bajo recuento plaquetario) o preeclampsia grave.	
Hemograma	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hemoglobina</li> <li>Hematocrito</li> <li>Recuento plaquetario</li> </ul>	
Proteínas urinarias (12 ó 24 horas)	
Creatinina sérica	
Ácido úrico sérico	
Diagnóstico del Síndrome HELLP	
Hemólisis	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Bilirrubina &gt; 1,2 mg/dl</li> <li>Frotis de sangre periférica anormal</li> <li>Lactato deshidrogenasa &gt; 600 U/L</li> </ul>	
Pruebas de la función hepática	
<ul style="list-style-type: none"> <li>ALT &amp; AST altos</li> </ul>	
Recuento plaquetario <100 x 10 <sup>9</sup> /L	
Diagnóstico de preeclampsia (control terapéutico)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Todo lo anterior</li> <li>Albúmina</li> <li>Pruebas de coagulación</li> </ul>	
Adaptado del Informe del Grupo de Trabajo de Hipertensión en el Embarazo del Programa Educativo Nacional de Presión Arterial Alta. Am J Obstet Gynecol. 2000; 183:51-22.	

## Diagnóstico de la infección por el virus de la Hepatitis C (HCV)

María Claudia Blanco Rivero PhD.  
Mónica Torruella PhD.  
Centro de Investigación y Biotecnología (CIBIO) Wiener lab.

### Introducción

El término hepatitis se refiere a todas aquellas enfermedades que pueden inflamar el hígado. La causa más común es una infección vírica, pero también puede ser producida por agentes químicos, venenos, drogas, bacterias, parásitos, entre otros. La hepatitis vírica típica en los humanos es producida debido al efecto de varios tipos de virus, siendo las formas más comunes causadas por el virus A (HAV), virus B (HBV) y virus C (HCV).

La Hepatitis C es la forma más común de hepatitis post-transfusional. Su agente etiológico es el virus C, un ARN virus envuelto perteneciente a la familia Flaviviridae, que causa enfermedad hepática aguda y crónica, y se transmite por vía parenteral. Después de la exposición al virus, el período de incubación oscila entre 2 y 26 semanas. La fase inicial de la enfermedad se denomina infección aguda y normalmente desaparece después de 2-12 semanas. El 80-85 % de las personas inicialmente infectadas no eliminan el virus de su organismo y permanecen crónicamente infectadas. Sin embargo, la mayoría no presenta síntomas y posee una vida normal. En el 10-25 % de los infectados la enfermedad sigue progresando durante un período de 10-40 años, lo cual puede ocasionar graves daños hepáticos como cirrosis, cáncer de hígado e incluso la muerte.

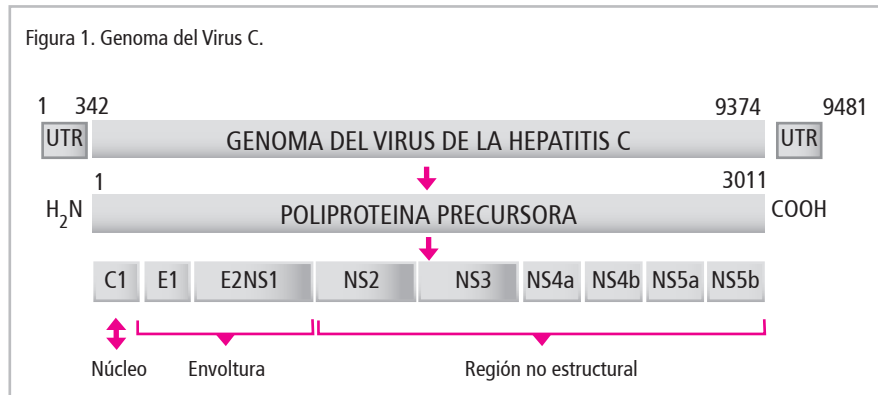
El genoma del HCV codifica para una poliproteína que es fragmentada en las siguientes proteínas funcionales (Figura 1):

- core (proteína de la nucleocápside),
- E1 y E2 (glicoproteínas de la envoltura),
- NS3 (serina proteasa y ATP helicasa),
- NS4 (cofactor de NS3)
- y NS5 (ARN polimerasa dependiente de ARN).

### Diagnóstico de infección por HCV

La hepatitis C es una enfermedad que raramente es diagnosticada antes de la aparición de sus complicaciones crónicas. El diagnóstico se basa en un análisis de sangre y una biopsia hepática. En la muestra de sangre se miden los parámetros bioquímicos de la función hepática, la serología y la carga viral, mientras que la biopsia informa sobre la extensión y gravedad de la lesión hepática.

Figura 1. Genoma del Virus C.



El período de ventana es el lapso de tiempo desde que un individuo adquiere una infección hasta la positivización de las pruebas diagnósticas. Este lapso de tiempo varía según la metodología, siendo más corto para métodos de detección directa del agente infeccioso, y más largo para los reactivos de detección de anticuerpos. A su vez, cada nueva generación de reactivos intenta acortar el período de ventana (Figura 2).

### Técnicas serológicas

#### - ELISA

Desde la caracterización molecular del virus C en 1989, se han desarrollado una variedad de pruebas diagnósticas basadas en la detección de anticuerpos anti-HCV (Figura 3). La detección de IgG específica contra el HCV mediante enzimoensayos continúa siendo el método más práctico para el diagnóstico de la infección por este virus.

En 1989 se comercializó el primer ensayo serológico para la detección de anticuerpos contra el virus C, y consistió en un ensayo inmunoenzimático (ELISA) indi-

recto, que empleaba un único antígeno derivado de la región NS4 y fusionado a superóxido dismutasa. Este sistema de primera generación mostró baja sensibilidad (80 %), baja especificidad, y realizaba el diagnóstico serológico de la infección con un retraso de aproximadamente 150 días. Este largo período de ventana permitía que aún se transmitiera HCV en transfusiones.

En 1991 fueron introducidos los ELISA de segunda generación, que empleaban los antígenos de las regiones core, NS3 y NS4. Esta nueva versión incrementó la sensibilidad de detección a 95 %, mejoró la especificidad, y redujo el período de ventana a aproximadamente 80 días.

Desde 1993 se emplean ELISA de tercera generación, que emplean antígenos de HCV de las regiones core, NS3, NS4 y NS5. Estos inmunoensayos presentan una notable mejora en la sensibilidad y especificidad respecto a las versiones anteriores. La mayor sensibilidad del ELISA de tercera generación es atribuida principalmente a la reconfiguración de los antígenos core y NS3, antes que a la incorporación de NS5. El período de ventana con esta última generación queda reducido a aproximada-

Figura 2. Acortamiento del período de ventana según la técnica empleada para el diagnóstico de la infección por HCV.

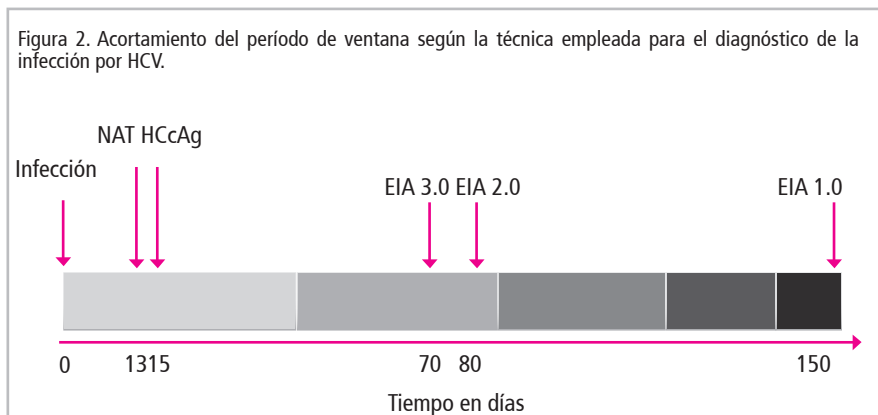
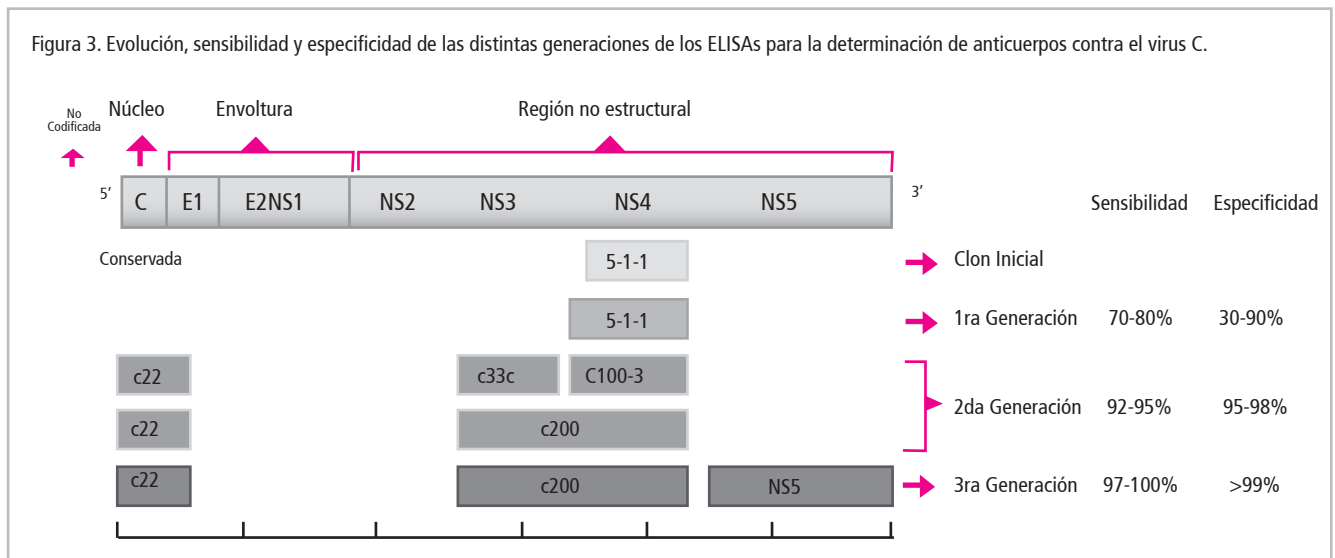


Figura 3. Evolución, sensibilidad y especificidad de las distintas generaciones de los ELISAs para la determinación de anticuerpos contra el virus C.



mente 58-72 días. A pesar del incremento en la especificidad en esta nueva generación de inmunoensayos, la presencia de falsos positivos, sigue siendo una de las desventajas de los ELISA para Hepatitis C.

### - Inmunoblot (Test de confirmación)

Existe una prueba suplementaria para la confirmación de la presencia de anticuerpos contra el virus C (RIBA/LIA). Ésta consiste en un inmunoblot, en el que sobre un soporte de nitrocelulosa se han fijado o separado antígenos recombinantes, o mezclas de antígenos y péptidos sintéticos. Se considera positiva cuando reacciona contra al menos dos antígenos distintos, indeterminada cuando hay reactividad frente a uno solo, y negativa cuando no reacciona con ninguno. Con un resultado indeterminado no se puede descartar ni confirmar la infección por HCV. Por lo tanto, en este caso debe realizarse la confirmación por PCR, o repetirse el ELISA 30-40 días después.

### - Detección del antígeno core de HCV

Se trata de un ensayo inmunoenzimático de captura por anticuerpos monoclonales, que permite detectar y cuantificar la viremia a través de la detección y cuantificación de la proteína del nucleocápside del virión. La primera generación detecta virus libre, la segunda generación detecta virus total (libre y unido a lípidos y proteínas) y es más sensible que la versión anterior, con un período de ventana cercano a los 8-20 días.

Esta técnica puede complementar a los métodos moleculares para estimar la carga viral y monitorear el tratamiento antiviral. Se estima que su sensibilidad clínica se acerca a las de las pruebas de detección de ARN-HCV, con correlaciones

superiores al 90 % en la gran mayoría de los estudios, con la ventaja de presentar menor riesgo de contaminación cruzada que la mayoría de las pruebas de detección de ARN-HCV y la posibilidad de ofrecer una cuantificación más precisa y más reproducible de la viremia. Por el contrario, no puede ofrecer información acerca del genotipo de virus involucrado en la infección.

Asimismo, se han desarrollado métodos para la detección simultánea de antígeno y anticuerpo del HCV, con una sensibilidad inferior a los ensayos que detectan únicamente antigenemia.

### Técnicas moleculares

#### - Determinación de ARN-HCV

La detección del ARN del virus se realiza mediante pruebas de amplificación genómica. La técnica más empleada es la amplificación por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) del DNA complementario (DNAC) a un fragmento del extremo 5'UTR, obtenido por retrotranscripción (RT-PCR). Un resultado positivo indica presencia de virus circulante y confirma infección en curso, aguda o crónica. Un resultado negativo en una muestra puntual no descarta la infección crónica, ya que la viremia es, en ocasiones, intermitente.

Durante el período ventana y en el caso de los pacientes inmunodeficientes humorales, estas pruebas de detección directa de virus proporcionan el diagnóstico de la infección cuando las pruebas de detección de anticuerpos pueden fallar.

En los últimos años se han desarrollado sistemas más ventajosos que permiten realizar una cuantificación de la viremia: carga viral o ARN-HCV cuantitativo. Estas pruebas miden el número de partículas de ARN virus presentes en la sangre. Una de

estas técnicas es la PCR en tiempo real. Para la unificación de los criterios de expresión de resultados entre los diferentes sistemas, la OMS introdujo un estándar internacional de referencia de ARN-HCV, cuantificado en unidades internacionales (UI). Las pruebas de carga viral se emplean antes y durante el tratamiento para ayudar a determinar la respuesta al mismo, comparando la cantidad de virus antes y después del tratamiento, en general a los 3 meses. El tratamiento efectivo produce una reducción del 99 % o más de la carga viral inmediatamente después de iniciado tratamiento (a las 4-12 semanas) y generalmente conduce a la ausencia de detección de carga viral.

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) son las más sensibles desarrolladas hasta ahora. Fueron inicialmente realizadas en pools de plasmas de donantes por el elevado costo y complejidad operativa. Actualmente se emplean en muestras individuales de donantes con el fin de incrementar la seguridad transfusional. Presentan un período de ventana de entre 5 y 7 días post infección.

#### - Genotipificación

La generalización de los tratamientos antivirales en la hepatitis C crónica, y la demostrada influencia del genotipo del virus en la respuesta al tratamiento han introducido el uso rutinario de pruebas de genotipificación de HCV en la práctica clínica. Estas pruebas se basan en la amplificación del genoma vírico mediante PCR seguida de hibridación reversa en tira (LiPA) o de secuenciación del amplicón. Mediante estas pruebas también se puede llegar a la discriminación del genotipo. También se utiliza en la actualidad la tecnología de PCR en tiempo real.

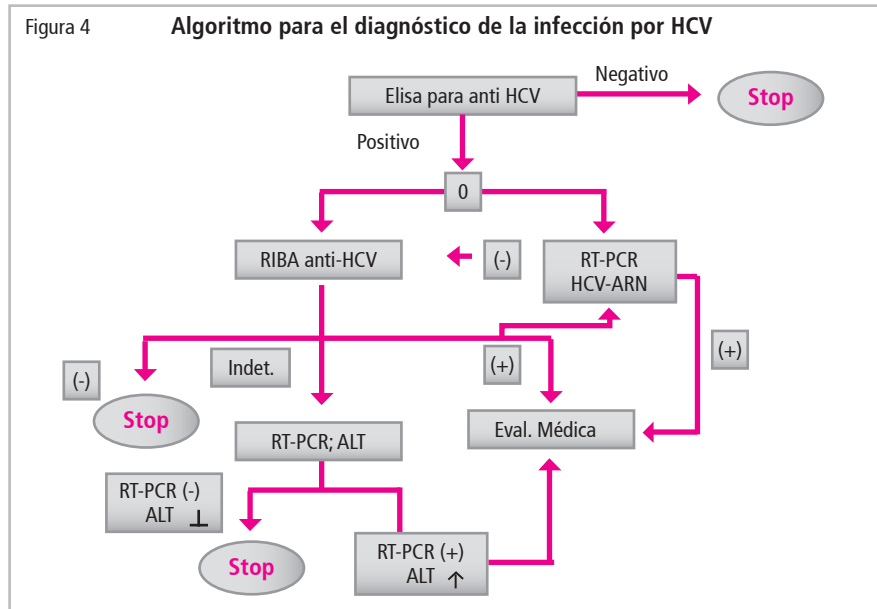
## Crterios para la interpretación de los resultados

El algoritmo más utilizado para el diagnóstico de hepatitis C se basa en el uso de pruebas de distinto fundamento de un modo secuencial, siguiendo el esquema que se muestra en la figura 4. En resumen, todo resultado positivo en un ELISA para la detección de anticuerpos contra el virus C, debe ser confirmado por Inmunoblot (RIBA/LIA), y/o PCR.

## Evaluación de un kit HCV ELISA de 3ª generación

De acuerdo al algoritmo propuesto puede observarse que las pruebas ELISA constituyen el primer paso para el descarte de una infección por hepatitis C, ya que éste continúa siendo el método más práctico para el diagnóstico de la infección por este virus.

Figura 4 Algoritmo para el diagnóstico de la infección por HCV



En la edición N°149 de NotiWiener, se presentarán estudios realizados en Argentina y otros países, que evalúan el desempeño

del kit Wiener lab. HCV ELISA 3ª generación, en bancos de sangre. ■

## El laboratorio práctico

### PCR ultra sensible

Recomendaciones para la evaluación de PCR como marcador de riesgo cardíaco.

En estos últimos años se ha demostrado que el incremento de la PCR dentro del intervalo de referencia está asociado con el riesgo relativo aumentado de desarrollar eventos cardiovasculares futuros.

Como la concentración de **PCR en sangre**, o sea, en el rango de referencia, es normalmente **baja se requiere una técnica especialmente sensible** para medirla. Esta prueba se llama PCR ultra sensible (PCR alta sensibilidad o PCR-hs, de sus siglas en inglés high sensitivity).

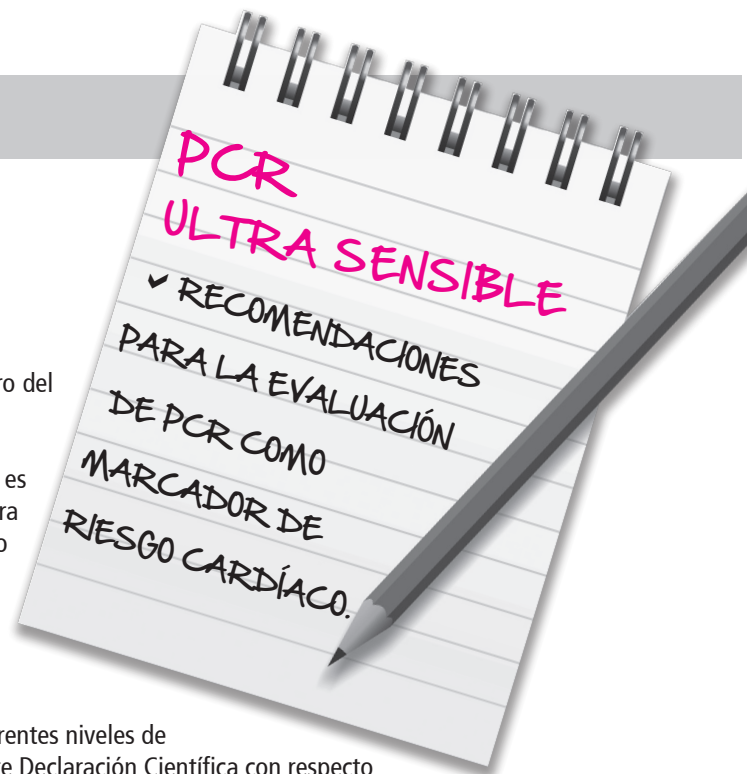
Cuando se comparan los marcadores nuevos y tradicionales en enfermedad coronaria, la PCR-hs muestra ser **el predictor más fuerte** de eventos coronarios futuros, y cuando se combina con colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol mejora notablemente su valor predictivo.

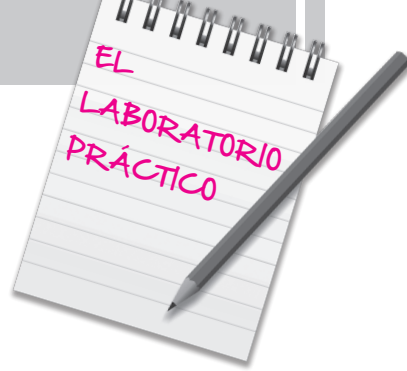
El American College of Cardiology y el American Heart Association, con diferentes niveles de evidencia aportados por los estudios clínicos, elaboraron su correspondiente Declaración Científica con respecto a la utilización de los marcadores de inflamación y enfermedad Cardiovascular, (AHA/CDC Scientific Statement, Circulation Enero 28, 2003).

En esta Declaración Científica se enumeran una serie de recomendaciones para el testeo de laboratorio, que responden a dos preguntas frecuentemente hechas desde el laboratorio clínico:

**1** Si se han de utilizar marcadores de inflamación como marcadores de riesgo cardíaco, que test sería el recomendado?

**2** Cómo debería ser medido el marcador de elección?





## 1- Test recomendado para utilizar como marcador de riesgo cardíaco.

La evidencia actual recomienda a la PCR-hs como analito de elección.

Esta recomendación fue realizada tras considerar su buena estabilidad en comparación con otros analitos; la precisión, la exactitud y la disponibilidad del test para determinarlo; y la disponibilidad de estándares para su adecuada calibración.

## 2- Cómo medir PCR-hs

- ▶ a- El ensayo debería ser realizado en personas metabólicamente estables, sin condiciones inflamatorias ni infecciosas obvias.
- ▶ b- Los resultados de PCR-hs deberían ser expresados únicamente en mg/L.
- ▶ c- La medición del marcador debería realizarse dos veces, con un intervalo de dos semanas entre la primera y la segunda muestra, y tomar el promedio de ambas muestras, ya sea en condiciones de ayuno o no. Esto sería necesario a fin de reducir la variabilidad intraindividual.
- ▶ d- Si el nivel de PCR-hs es  $>$  de 10 mg/L, el test debería ser repetido dentro de dos semanas, y examinar al paciente buscando inflamación o infección.
- ▶ e- Los niveles obtenidos de PCR-hs, utilizando ensayos estandarizados, permitieron categorizar el riesgo de los pacientes de la siguiente manera:

Categorización del Riesgo Relativo según el promedio de los niveles de PCR hs:

Bajo  $<$  1 mg/L

Medio entre 1 a 3 mg/L

Alto  $>$  3 mg/L

(Estos valores de corte están basados en estudios realizados en cerca de 40.000 individuos de 15 poblaciones diferentes)

Finalmente, cuando se interpretan resultados de valores de PCR-hs debería preguntarse:

**Cuáles son las características y/o condiciones que pueden modificar los niveles de PCR-hs?**

A tener en cuenta:

Aumento de Niveles	Disminución de Niveles
Presión arterial elevada	Consumo moderado de alcohol
Índice de Masa Corporal elevado	Actividad física periódica / Ejercicios de resistencia (en caso de ser una actividad extrema en personas no entrenadas, aparecen aumentos importantes transitorios)
Fumadores (en los fumadores se hallan valores de hasta 2,5 mg/L)	Pérdida de peso
Síndrome metabólico / Diabetes mellitus	Medicamentos
TG elevados / HDL bajo	Estatinas
Consumo de estrógenos / progestágenos	Fibratos
Infecciones crónicas (gingivitis, bronquitis) RECORDAR: Un valor $>$ 10 mg/L debe repetirse a las dos semanas y buscar posibles inflamaciones o infecciones.	Niacina
Inflamación crónica (artritis reumatoidea) RECORDAR: Un valor $>$ 10 mg/L debe repetirse a las dos semanas y buscar posibles inflamaciones o infecciones.	

Bioq. Ma. Alejandra Kalinsky  
CB series  
Product Team

Bioq. Ma. Gabriela Alegre  
Marketing

**Novedades**

**Niveles de calcio sérico ligados a elevada mortalidad en pacientes con deficiencia renal no dializados.**



Investigaciones recientes indican que la hipercalemia está asociada a un incremento en la mortalidad en pacientes con insuficiencia renal tanto crónicos como agudos no dializados.

Los resultados sugieren que mientras los bajos niveles de calcio pueden resultar perjudiciales a largo plazo, los niveles altos de calcio pueden ser también dañinos en períodos más prolongados.

El estudio se realizó sobre 1259 hombres evaluados para enfermedad renal crónica y sin diálisis con una media de 18 determinaciones de calcio durante un período de 3,2 años.

Los resultados mostraron una relación proporcional entre niveles elevados de calcio y mortalidad.

Los investigadores concluyeron que mantener un nivel de calcio dentro de los parámetros normales podría ser beneficioso en este tipo de pacientes aunque enfatizaron que serán necesarios estudios prospectivos para determinar el valor deseable y cómo conseguirlo.

Clin J. Am Soc Nephrol 2010

**También en veterinaria... Monitoreo de intoxicación de ganado por determinación de colinesterasa sérica**



La producción agropecuaria, es una actividad en donde se utilizan una importante cantidad de sustancias químicas para el control de plagas, siendo una práctica generalizada y en aumento en todo el mundo. El principio básico de la acción de los plaguicidas reside en su toxicidad con respecto al menos de uno de los objetivos (tipo de insecto, maleza, etc.); pero como el grado de especificidad de tales compuestos no es preciso, también resultan tóxicos para otras especies o alteran su comportamiento. Uno de los rubros más afectados por los efectos colaterales de estos compuestos es la ganadería. Algunos de los compuestos químicos más utilizados para combatir plagas son los organofosforados y carbamatos. Ambos tipos de compuestos son considerados altamente tóxicos para los mamíferos, debido a que originan un síndrome colinérgico, por ser inhibidores de la enzima colinesterasa. Por lo tanto, uno de los análisis que permite la evaluación del grado de intoxicación del ganado vacuno es la determinación de colinesterasa sérica. En un trabajo realizado en Venezuela se determinan los valores de referencia para este tipo de ganado, de manera de monitorear a través de esta sencilla determinación los posibles niveles de intoxicación del ganado vacuno, empleando el kit de Colinesterasa de Wiener lab.

Revista de la Facultad de Farmacia Vol. 46 (1) 2004 , Universidad de los Andes, Mérida - Venezuela

Revista de la Facultad de Farmacia Vol. 46 (1) 2004 , Universidad de los Andes, Mérida - Venezuela

**Agenda**

Del 15 al 17 de julio de 2010  
Santiago de Chile, Chile

**XV Congreso Chileno de Tecnología Médica, V Encuentro Panamericano de Tecnólogos Médicos**

Sede: Hotel Grand Hyatt

**Más información:** [www.congresotm.cl](http://www.congresotm.cl)

Del 27 al 29 de julio  
Anaheim, California, USA

**2010 AACC/CSCC Annual Meeting and Clinical Lab Expo**

**Más información:**  
[www.aacc.org/events](http://www.aacc.org/events)

Del 14 al 19 de septiembre de 2010  
Río de Janeiro, Brasil

**44° Congreso de SBPC / ML - Sociedade Brasileira de Patología Clínica Medicina Laboratorial**

"Medicina Laboratorial - De la concepción a la tercera edad"

Lugar: Centro de Convenciones de Sudamérica

**Más información:** [www.sbpc.org.br](http://www.sbpc.org.br)

Del 15 al 17 de septiembre de 2010  
Ciudad de Buenos Aires, Argentina

**VI Congreso Argentino y Latinoamericano de Técnicos en Hemoterapia e Inmunoematología**

Sede: NH City Hotel

**Más información:**  
[www.aathi.com.ar/congreso2010](http://www.aathi.com.ar/congreso2010)

Del 23 al 25 de septiembre de 2010  
Salta, Argentina

**XVIII Jornadas Bioquímicas del NOA**  
Sede: Hotel Alejandro I

**Más información:** [www.cubra.org.ar](http://www.cubra.org.ar)

**NotiWiener** 

**Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios S.A.I.C.**

Número 148 - Año XLIV - Junio de 2010

Director: Gustavo A. Capriotti

Redactor: Centro de Investigación y Biotecnología (CIBIO) - Marketing

Editor Responsable: Wiener Laboratorios S.A.I.C.

[www.wiener-lab.com.ar](http://www.wiener-lab.com.ar)



**Wiener Laboratorios S.A.I.C**

Riobamba 2944,

S2003GSD Rosario, Argentina

Tel.: +54 341 4329191/6

Moreno 1850, 2° piso,

C1094ABB Buenos Aires, Argentina

Tel.: +54 11 43754151/4

[marketing@wiener-lab.com.ar](mailto:marketing@wiener-lab.com.ar) - [www.wiener-lab.com.ar](http://www.wiener-lab.com.ar)