

- REVISTA DE -

# MEDICINA DE LABORATORIO

ISSN (versión papel): 2660-7484

ISSN (versión electrónica): 2660-7638

Vol. 1 Núm. 1 | enero-abril 2020 | Págs. 1-45

## Editoriales

Nuevo tiempo, nueva oportunidad ..... 1  
*F. Bandrés, M.ª R. Caro, E. Rodríguez, V. Morales*

El año que no pudimos descansar / El año que pusimos en marcha  
la *Revista de Medicina de Laboratorio* ..... 2  
*A. Rider Pérez, S. Prieto Menchero*

## Original

Algoritmo para el cribado de la proteinuria de Bence Jones en  
el laboratorio ..... 4  
*J. M. López Gómez, B. Sacristán Enciso, M. Rodríguez Hernández,  
S. Gómez Vera*

## Revisión

Epidemiología, detección de resistencias y tropismo de VIH-1:  
puesta al día ..... 10  
*M. Albert Hernández, Á. San Miguel Hernández*

## Artículo Especial

Consejos para revisores de la *Revista de Medicina de Laboratorio* .. 21  
*E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, M.ª R. Caro Narros,  
F. Bandrés Moya*

## Casos Clínicos

Recién nacido con debut de ictericia neonatal no isoimmune.  
Síndrome de Crigler-Najjar ..... 25  
*M.ª J. Ruiz Márquez, R. Cabra Rodríguez, G. M.ª Varo Sánchez*

Vacuolated lymphocytes, a clinical finding in GM1 gangliosidosis ... 29  
*S. Montolio Brea, R. Sánchez Parrilla, C. Gutiérrez Fornes, M.ª T. Sans Mateu*

## Imagen/Infografía

COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico ..... 32  
*Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio  
(AEBM-ML)*

COVID-19. Perspective from the clinical laboratory ..... 38  
*Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio  
(AEBM-ML)*

Cristales de colesterol en líquido pleural ..... 44  
*A. Martín García, Á. Llorente Ujado, J. Coronado Colorado*

©AEBM-ML (2020)  
©AEFA (2020)  
©Arán Ediciones, S.L. (2020)

La *Revista de Medicina de Laboratorio* es una revista open access, lo que quiere decir que todo su contenido es accesible libremente sin cargo para el usuario individual y sin fines comerciales. Los usuarios individuales están autorizados a leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o enlazar a los textos completos de los artículos de esta revista sin permiso previo del editor o del autor, de acuerdo con la definición BOAI (Budapest Open Access Initiative) de open access. La reutilización de los trabajos puede hacerse siempre y cuando el trabajo no se altere en su integridad y sus autores sean adecuadamente referenciados o citados en sucesivos usos, y sin derecho a la producción de obras derivadas

Esta revista se publica bajo la licencia CC BY-NC-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)



ISSN electrónico: 2660-7638  
ISSN papel: 2660-7484  
Publicación trimestral  
Depósito legal: M-14367-2020

#### Edición y administración:



Arán Ediciones, S.L.  
Castelló, 128, 1.º  
Tel. +34 91 745 17 29  
28006 Madrid (España)

#### Suscripciones:

##### Tarifa de suscripción anual (España):

Profesionales 95 € + IVA - Instituciones 120 € + IVA

##### Tarifa de suscripción anual (internacional):

250 € + IVA

Aran Ediciones, S.L.  
Castelló, 128, 1.º - 28006 Madrid (España) - Teléfono: +34 91 745 17 29  
Correo electrónico: [suscripc@grupoaran.com](mailto:suscripc@grupoaran.com)

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de recuperación de almacenaje de información, sin la autorización por escrito del titular del Copyright.

La editorial declina toda responsabilidad sobre el contenido de los artículos que aparezcan en esta publicación.

[www.revistamedicinadelaboratorio.es](http://www.revistamedicinadelaboratorio.es)



## Equipo Directivo

### DIRECTOR

Dr. Fernando Bandrés Moya  
(Universidad Complutense de Madrid, Madrid)  
bandres@ucm.es

### EDITORA JEFE

Dra. M.ª del Rosario Caro Narros  
(Complejo Asistencial de Segovia, Segovia)  
rcaro@saludcastillayleon.es

### EDITORES

Dr. Vicente Morales Elípe  
(Hospital General Universitario de Ciudad Real, Ciudad Real)  
vmelipe@sescam.jccm.es

Dr. Enrique Rodríguez Borja  
(Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia)  
enrobor@gmail.com

## Editores Asociados

Gil Ruiz, María Teresa  
(Hospital General Nuestra Señora del Prado de Talavera de la Reina, Toledo)  
tgruiz@sescam.jccm.es

Laserna Mendieta, Emilio  
(Unidad de Investigación del Hospital General de Tomelloso, Ciudad Real.  
Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Universitario  
de La Princesa, Madrid)  
ejlaserna@gmail.com

Pineda Tenor, Daniel  
Hospital de Antequera  
(Área de Gestión Sanitaria Norte de Málaga)  
dpinedatenor@gmail.com

San Miguel Hernández, Ángel  
(Hospital Univ. Río Hortega, Valladolid)  
asanmi@saludcastillayleon.es

López Gómez, Juan Manuel  
(Hospital Univ. de Badajoz, Badajoz)  
lopezhospi@gmail.com

## Consejo Asesor

Dr. Rui Manuel Amaro Pinto  
Profesor en la Facultad de Farmacia.  
Universidad de Lisboa, Portugal

Adela Castañeda de la Mata  
Especialista en Hematología y Hemoterapia.  
Hospital Universitario de Fuenlabrada.  
Fuenlabrada, Madrid, España

Prof Gilbert C. Faure  
MD, PhD. Laboratoire d'Immunologie.  
Faculté de Médecine.  
Université Lorraine and CHU Nancy, France

Prof. Jesús Miguel García-Foncillas  
Director, Translational Oncology Division.  
Research Institute FJD-UAM, Madrid, España

Montserrat González Estechea  
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.  
Madrid, España

Dr. Juan Miguel Guerrero Montávez  
Jefe de Servicio de Bioquímica Clínica.  
Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla.  
Catedrático vinculado a la Universidad de Sevilla.  
Sevilla, España

Gustav Kovac  
Slovak Medical University: Institute of Chemistry,  
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.  
Bratislava, Slovak Republic

Prof. Vesna Kusec  
MD PhD. University Hospital Centre Zagreb. Clinical  
Institute of Laboratory Diagnosis Zagreb, Croatia

Juan Ernesto del Llano-Señaris  
Presidente de la Fundación Gaspar Casal.  
Madrid, España

Dr. Franklim Marques  
Profesor de la Facultad de Farmacia, Universidad de  
Porto. Laboratorio de Bioquímica, Porto, Portugal

Luis Nogueira Martins  
Centro de Medicina Laboratorial Germano de Sousa.  
Lisboa, Portugal

Dr. Leverton Ortiz Cáceres  
Jefe del Laboratorio Clínico, Hospital de la Serena.  
Chile

Wytze Pier Oosterhuis  
Zuyderland Medical Center, Heerlen/Sittard.  
The Netherlands

Dra. M.ª del Carmen Pasquel  
Directora General Revista DIV/RIA/IFCC.  
Asesora Regional de la Fundación Wiener, Ecuador

Prof. Roberto Verna  
MD PhD, Professor Faculty of Medicine.  
Sapienza University of Rome. President of World  
Association of Societies of Pathology and  
Laboratory Medicine. President of World Pathology  
Foundation, Rome, Italy



Santiago Prieto Menchero

**Presidente de la Asociación Española  
de Biopatología Médica-Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)**



Antonio Rider Pérez

**Presidente de la Asociación Española  
del Laboratorio Clínico**



# - REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 1 Núm. 1 | enero-abril 2020

## Sumario

### Editoriales

- Nuevo tiempo, nueva oportunidad ..... 1  
*F. Bandrés, M.ª R. Caro, E. Rodríguez, V. Morales*
- El año que no pudimos descansar / El año que pusimos en marcha  
la *Revista de Medicina de Laboratorio* ..... 2  
*A. Rider Pérez, S. Prieto Menchero*

### Original

- Algoritmo para el cribado de la proteinuria de Bence Jones en el laboratorio ..... 4  
*J. M. López Gómez, B. Sacristán Enciso, M. Rodríguez Hernández, S. Gómez Vera*

### Revisión

- Epidemiología, detección de resistencias y tropismo de VIH-1: puesta al día .... 10  
*M. Albert Hernández, Á. San Miguel Hernández*

### Artículo Especial

- Consejos para revisores de la *Revista de Medicina de Laboratorio* ..... 21  
*E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, M.ª R. Caro Narros, F. Bandrés Moya*

### Casos Clínicos

- Recién nacido con debut de ictericia neonatal no isoimmune.  
Síndrome de Crigler-Najjar ..... 25  
*M.ª J. Ruiz Márquez, R. Cabra Rodríguez, G. M.ª Varo Sánchez*
- Linfocitos vacuolados, un hallazgo clínico en la gangliosidosis GM1 ..... 29  
*S. Montolio Brea, R. Sánchez Parrilla, C. Gutiérrez Fornes, M.ª T. Sans Mateu*

### Imagen/Infografía

- COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico ..... 32  
*Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)*
- Cristales de colesterol en líquido pleural ..... 44  
*A. Martín García, Á. Llorente Ujado, J. Coronado Colorado*



# - REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Vol. 1 No. 1 | January-April 2020

## Summary

### Editorials

- New time, new opportunity ..... 1  
*F. Bandrés, M.ª R. Caro, E. Rodríguez, V. Morales*
- The year we could not rest / The year we launched the journal  
*Revista de Medicina de Laboratorio* ..... 2  
*A. Rider Pérez, S. Prieto Menchero*

### Original

- Algorithm for the screening of Bence Jones proteinuria in the laboratory ..... 4  
*J. M. López Gómez, B. Sacristán Enciso, M. Rodríguez Hernández, S. Gómez Vera*

### Review

- Epidemiology, detection of resistance and tropism of HIV-1: update ..... 10  
*M. Albert Hernández, Á. San Miguel Hernández*

### Special Article

- Tips for reviewers of *Revista de Medicina de Laboratorio* ..... 21  
*E. Rodríguez Borja, V. Morales Elipe, M.ª R. Caro Narros, F. Bandrés Moya*

### Case Reports

- Newborn with debut of non-immune neonatal icterea.  
Crigler-Najjar syndrome ..... 25  
*M.ª J. Ruiz Márquez, R. Cabra Rodríguez, G. M.ª Varo Sánchez*
- Vacuolated lymphocytes, a clinical finding in GM1 gangliosidosis ..... 29  
*S. Montolio Brea, R. Sánchez Parrilla, C. Gutiérrez Fornes, M.ª T. Sans Mateu*

### Images/Infographics

- COVID-19. Perspective from the clinical laboratory ..... 38  
*Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)*
- Cholesterol crystals in pleural fluid ..... 44  
*A. Martín García, Á. Llorente Ujado, J. Coronado Colorado*



# - REVISTA DE - MEDICINA DE LABORATORIO

www.revistamedicinadelaboratorio.es

Editorial

DOI: 10.20960/revmedlab.00030

## Nuevo tiempo, nueva oportunidad

### *New time, new opportunity*

Con este primer número empezamos nuestra andadura todos los que formamos parte del Equipo Editorial de la *Revista de Medicina de Laboratorio*. Pretendemos que esta Revista cumpla con los requisitos que nuestra profesión demanda actualmente. En ella tendrán cabida todos los artículos referentes al ámbito del Laboratorio Clínico, así como temas relacionados directamente con el desarrollo de nuestra actividad tales como el profesionalismo y la bioética. Queremos ser capaces de llegar a todo aquel que tenga una inquietud científica, por lo que nace como una revista abierta y totalmente accesible, con espacios disponibles para poder incluir otros formatos de comunicación tales como entrevistas o podcast.

Desde el Equipo Editorial de la revista nos comprometemos a seguir todos los criterios de calidad que debe cumplir una revista científica y a que el rigor científico marque nuestra actuación, para poder poner a vuestra disposición información de interés para nuestro trabajo diario. Asimismo, nos comprometemos a que nuestra actuación editorial sea ágil, para que los investigadores vean publicados sus trabajos en el menor tiempo posible.

Queremos expresar nuestro agradecimiento a los autores que ya habéis confiado en nosotros y nos habéis enviado vuestros trabajos y os animamos a todos a que nos hagáis llegar artículos de interés, que sean relevantes para el Laboratorio Clínico.

Aunque somos conscientes de que conseguir la indexación de la revista no es tarea fácil, pues son muchos los factores que intervienen, este será un objetivo que esta Dirección tendrá como prioritario a medio plazo.

Fernando Bandrés, María del Rosario Caro,  
Enrique Rodríguez, Vicente Morales  
Directores de la *Revista de Medicina de Laboratorio*



## El año que no pudimos descansar / El año que pusimos en marcha la *Revista de Medicina de Laboratorio*

### *The year we could not rest / The year we launched the journal* Revista de Medicina de Laboratorio

Cuando el tiempo pase, recordaremos el año 2020 como el año en que como profesionales sanitarios no pudimos descansar y que como personas no pudimos abrazar a los amigos ni despedirnos de seres queridos.

La pandemia del COVID-19 está marcando y marcará el próximo futuro profesional y social de todos nosotros y de nuestras familias.

Recordaremos también que en este año terrible pusimos en marcha la *Revista de Medicina de Laboratorio*. Una revista que defiende por encima de todo la labor técnica y sobre todo profesional de los especialistas que componen el laboratorio clínico. Lo que nos define, como estamos demostrando en estos días aciagos es el *papel del laboratorio integrado en la atención al paciente*.

En el año 2008 se publicó el primer número de la *Revista de Laboratorio Clínico*. Sustituía a las revistas de las sociedades cofundadoras: Diagnóstico Biológico, Análisis Clínicos y Química Clínica.

En aquel momento los tres presidentes (1) consideraron que *“sus objetivos y las características, así como los intereses científicos y profesionales de sus asociados, tienen más en común que las circunstancias geográficas, estructurales e históricas que las diferencian”*.

Como fruto de esa visión común se puso en marcha la celebración de un único Congreso Nacional que ha sido un éxito absoluto desde entonces y cuya celebración en Zaragoza este año 2020 esperamos que cumpla de nuevo las expectativas.

Quedaba *“claro que esta unificación de congreso y revista no traerá consigo la pérdida de la personalidad propia de cada una de las sociedades. Las tres mantendremos, complementaremos y ampliaremos, en la medida de lo posible, otras muchas actividades encaminadas a la formación continuada y al desarrollo profesional de sus asociados, así como otros objetivos recogidos en nuestros respectivos estatutos”*.

En el número inicial la editorial de Felip Antonja (2) la definía claramente *“como herramienta de comunicación científica, su objetivo es la transmisión de los avances en el conocimiento y la difusión de los beneficios que las nuevas tecnologías aportan al laboratorio clínico. Pero, además, sus editoriales, revisiones, artículos originales, notas técnicas, documentos, cartas y otras formas de expresión han de contribuir a la discusión entre colegas, el fomento de la capacidad crítica, la ayuda en las pequeñas decisiones cotidianas y también en las decisiones estratégicas importantes, sin olvidar, en lo posible, el debate ético y la mirada hacia los grandes retos del futuro”*.

Y terminaba indicando que *“es inevitable ahora mirar hacia atrás: se han cerrado tres revistas con una historia muy digna y es justo reconocer las horas de dedicación altruista de quienes han tenido la responsabilidad de su confección. Se merecen el homenaje más respetuoso y el agradecimiento sincero”*.

La historia se repite, a veces más feliz, a veces más amarga. Con el cierre no deseado por nosotros de la *Revista del Laboratorio Clínico*, desaparece una publicación con una historia muy digna, y es justo reconocer la dedicación y el tesón de cuantos formaron parte de ella desde sus directores Felip Antoja y Jesús Molano, a sus consejos editoriales y a cuantos autores depositaron en ella su confianza. A todos ellos nuestra mayor gratitud.

El lanzamiento de una nueva revista es siempre un desafío financiero y humano, pero en nuestro caso pensamos que era nuestra obligación como presidentes de AEBM-ML y AEFA mantener el espíritu de un órgano de expresión científica común de los especialistas de laboratorio.

El objetivo de la nueva revista debe ser la revisión, actualización y difusión de todos aquellos aspectos científicos y profesionales que interesan a los especialistas del laboratorio clínico.

Por tanto, la nueva revista *Revista de Medicina de Laboratorio* será plural y abierta, en ella tendrá cobijo cualquier disciplina relacionada con el laboratorio clínico. Tiene que ser útil para el trabajo de los profesionales, científicamente robusta y transparente en sus objetivos.

Las revistas científicas ofrecen una labor de comunicación entre los profesionales de la salud esencial, proveyendo al profesional de la medicina de laboratorio de nuevas ideas, métodos y tecnologías, herramientas sin las cuales es imposible ofrecer a la sociedad una medicina de calidad y personalizada que es la que precisan y demandan nuestros pacientes.

Pero no están a salvo de las críticas (3,4), todos hemos tenido conocimiento de escándalos que dejan en entredicho a muchas revistas científicas, incluso de gran prestigio, que se ven obligadas a retractarse de dudosos estudios científicos. Ello es debido en gran parte a la mercantilización, la competición y la clasificación elitista que se produce por parte de autores y revistas. En ocasiones lo que predomina son las palabras artículo, impacto y financiación. Las publicaciones pierden así la reflexión crítica y como consecuencia siembran la desconfianza entre los propios profesionales y finalmente entre la sociedad en general.

Por ello *Revista de Medicina de Laboratorio* debe ser la expresión científica y profesional de los especialistas que trabajan en el día a día del laboratorio, de sus problemas y éxitos, lejos de todo interés espurio o supremacista.

Y para alcanzar esta excelencia, tanto AEFA como AEBM-ML ofrecieron y encontraron respuesta positiva y entusiasta a las diferentes sociedades autonómicas integradas en SOCILAB-ML la posibilidad de trabajar todas juntas en esta nueva aventura editorial.

Así, y de momento, ACLAC, ANCLEX, AVELAC, LABCAM, SANAC y SCLAC se unen en este proyecto a AEBM-ML y AEFA, enriqueciéndolo con su cercanía, conocimientos e inquietudes y completando lo que será sin duda una gran revista, que empieza su andadura en 2020.

La cancelación unilateral e imprevista de la *Revista del Laboratorio Clínico* -incluso de su cabecera- por parte de SEQCML planteó a las juntas de AEBM-ML y de AEFA un desafío. Pero eso ya forma parte del pasado, nuestros objetivos son de unión que son los que fortalecen y engrandecen a las entidades y por supuesto a las personas.

Desde una pandemia hasta una nueva revista, hacer de las amenazas oportunidades es una manera de encarar el futuro, la profesión y la vida. Y en ello estamos.

A todos los que de manera altruista y desinteresada han tomado la responsabilidad de su confección, nuestro agradecimiento más sincero y el convencimiento de que el proyecto será un gran éxito.

Antonio Rider Pérez<sup>1</sup> y Santiago Prieto Menchero<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Presidente AEFA. <sup>2</sup>Presidente AEBM-ML

## BIBLIOGRAFÍA

1. García Montes M, Martínez del Olmo S, Álvarez Menéndez FV. Primer número de Revista del Laboratorio Clínico. Rev Lab Clin 2008;1(1):1.
2. Antoja Ribó F. El nacimiento de Revista Del Laboratorio Clínico Rev Lab Clin 2008;1(1):2.
3. Ioannidis, JP Why Most Clinical Research Is Not Useful. PLoS Med 2016;13(6):e1002049.
4. Dal-Ré R. Analysis of biomedical Spanish articles retracted between 1970 and 2018. Med Clin (Barc) 2020;154(4):125-30. DOI: 10.1016/j.medcli.2019.04.018



Original

## Algoritmo para el cribado de la proteinuria de Bence Jones en el laboratorio

### *Algorithm for the screening of Bence Jones proteinuria in the laboratory*

Juan-Manuel López Gómez<sup>1</sup>, Beatriz Sacristán Enciso<sup>2</sup>, Mercedes Rodríguez Hernández<sup>1</sup> y Sergio Gómez Vera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Análisis Clínicos. Complejo Hospitalario Universitario de Badajoz. Badajoz. <sup>2</sup>Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida. Badajoz

**Recibido:** 30/03/2020  
**Aceptado:** 28/04/2020

**Correspondencia:** Beatriz Sacristán Enciso. Laboratorio de Análisis Clínicos. Hospital de Mérida. Avda. Don Antonio Campos Hoyos, 26. 06800 Mérida, Badajoz  
e-mail: beatriz.sacristan@salud-juntaex.es; bsacristane@gmail.com

#### Palabras clave:

Algoritmo. Bence Jones. Cociente cadena ligera Kappa/Lambda. Cribado orina.

#### Resumen

**Introducción:** la inmunofijación en orina (IFo) es el procedimiento de rutina más sensible y específico para la detección e identificación de la proteinuria de Bence-Jones (PBJ). El propósito de nuestro estudio fue establecer unos puntos de corte del cociente Kt/Lt para confirmar la existencia de PBJ y realizar un algoritmo para disminuir el número de IFo a realizar.

**Material y métodos:** se seleccionaron 763 IFo de las realizadas entre los años 2005 y 2017 en el Área de Salud de Badajoz.

**Resultados:** 225 orinas presentaron un cociente Kt/Lt  $< 0,7$  o  $> 8$ . En todas las IFo fue positiva. Con un cociente Kt/Lt comprendido entre 0,7 y 8, encontramos 495 orinas; en 59 de ellas, la IFo fue positiva; la mayoría (76,27 %) presentaron una electroforesis de proteínas séricas (EFs) sospechosa de proteína monoclonal (PM) e inmunofijación sérica (IFs) positiva.

**Conclusiones:** un cociente Kt/Lt  $< 0,7$  o  $> 8$  presenta un valor predictivo positivo (VPP) del 100 % para diagnosticar una PBJ. Un cociente Kt/Lt entre 0,7-8 y EFs no sospechosa de PM, IFs no detectable o una concentración de Kt en orina  $< 7,1$  mg/l y de Lt  $< 3,9$  mg/l, excluyen una PBJ con un valor predictivo negativo (VPN) del 98,2 %, 97,4 % y 96,4 % respectivamente.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00012

López Gómez JM, Sacristán Enciso B, Rodríguez Hernández M, Gómez Vera S. Algoritmo para el cribado de la proteinuria de Bence Jones en el laboratorio. Rev Med Lab 2020;1(1):4-9

**Keywords:**

Algorithm. Bence Jones. Kappa/Lambda light chain ratio. Screening urin.

**Abstract**

**Introduction:** immunofixation in urine (oIFE) is the most sensitive and specific routine procedure for the detection and identification of Bence-Jones proteinuria (BJP). The purpose of our study was taking into account the quotient Kt/Lt ratio in urine, establish some cut-off points to confirm the existence of BJP and perform an algorithm, to reduce the number of oIFE to be performed.

**Material and methods:** we selected 763 oIFE immunofixation in urine performed between 2005 and 2017 at the Health Area of Badajoz.

**Results:** 225 urine samples showed a Kt/Lt ratio  $< 0.7$  or  $> 8$ . All oIFE was positive. With a Kt/Lt ratio between 0.7 and 8, there were 495 urine, in 59 the oIFE was positive. Most of them (76.27 %) presented an SPE that were suspicious of monoclonal protein (MP) and serum immunofixation (sIFE) positive.

**Conclusions:** a Kt/Lt ratio  $< 0.7$  or  $> 8$ , predicts a BJP with a positive predictive value of 100 %. In the case of urine with a Kt/Lt ratio in urine between 0.7-8, an serum protein electrophoresis (SPE) nor suspicious of MP, a sIFE not detectable in case of suspicion of MP in, or a concentration of Kt and Lt in urine  $< 7.1$  mg/L and  $< 3.9$  mg/L, exclude a PBJ with a negative predictive value of 98.2 %, 97.4 % and 96.4 %, respectively.

**INTRODUCCIÓN**

La electroforesis de proteínas séricas (EFs) constituye, por norma general, el primer paso en la búsqueda de una proteína monoclonal (PM), seguida de la realización de una electroforesis de proteínas urinarias (EFo). En el caso de sospecharse una PM, se realiza una inmunofijación sérica (IFs) o urinaria (IFo) que permite identificar el isotipo de inmunoglobulina implicada, con su posterior cuantificación (1,2). La finalidad del estudio analítico de una PM en orina, radica en detectar e identificar la presencia de cadenas ligeras libres Kappa o Lambda (PBJ) de inmunoglobulinas monoclonales o sus fragmentos, de un clon que prolifera (3,4).

La excreción de PBJ tiene un significado tanto diagnóstico como pronóstico importante. Deben investigarse en el diagnóstico y seguimiento de las gammopatías monoclonales de significado incierto (GMSI) (5), mieloma múltiple (MM), especialmente en el mieloma de cadenas ligeras, macroglobulinemia de Waldenström, linfomas, amiloidosis AL y enfermedad por depósito de cadenas ligeras (4,6).

La concentración en orina de la PBJ varía ampliamente y depende esencialmente de la masa tumoral, la función renal, y las características moleculares de la proteína. Una concentración en orina de la cadena afectada superior a 0,2 g/L indica habitualmente una proliferación maligna de células B como el MM. Concentraciones inferiores a 0,1 g/L se pueden encontrar en MM tratados con respuesta parcial, en el 25 % de los casos de GMSI, amiloidosis AL, enfermedad por depósito de cadenas ligeras, neoplasias proliferativas de células B (especialmente en la leucemia linfocítica crónica), y en el linfoma no-Hodgkin (7).

La IFo es el procedimiento de rutina más sensible y específico para la detección e identificación de la PBJ (8-11). No obstante, debido a la laboriosidad, el coste del procedimiento y el moderado porcentaje de resultados positivos sobre la demanda, es conveniente la utilización de procedimientos de cribado de las peticiones (12).

Métodos inmunoquímicos como la nefelometría o turbidimetría pueden ser usados para la detección de PBJ como cribado inicial. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la cuantificación puede ser no fiable en los casos de elevadas concentraciones de antígenos, además de que los antisueros no identifican la clonalidad de las cadenas ligeras y frecuentemente la PBJ coexiste con cadenas ligeras libres policlonales, como ocurre en lesiones tubulares renales (13) y los métodos inmunoquímicos en fase líquida no permiten identificar la monoclonalidad de las cadenas ligeras. Sin embargo, como la cadena afectada estará elevada con respecto al componente policlonal, un cociente Kappa/Lambda en orina alterado permite sospechar la presencia de PBJ (7,12,14,15). Basándonos en un cociente (Kt/Lt) alterado, han sido propuestos diferentes puntos de corte en orina como cribado, para disminuir la realización de IFo (12,14,16).

Teniendo en cuenta que la EFs constituye el primer paso en la búsqueda de la PM, y que aproximadamente el 67 % de los pacientes con una PM en suero excretan PBJ en orina (17), el objetivo de nuestro estudio fue establecer un punto de corte y realizar un algoritmo basado en el cociente Kt/Lt en orina, EFs e IFs que pueda contribuir a mejorar el rendimiento diagnóstico del cribado de la PBJ, disminuyendo el número de IFo a realizar.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Población estudiada

Se trató de un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo donde se revisaron las IFo realizadas entre los años 2005 a 2017 en el Hospital Universitario de Badajoz y su Área de Salud. Se seleccionaron las IFo correspondientes a 763 pacientes a las que además se había solicitado EFs, IFs y cuantificación de cadenas Kt y Lt en orina. Para la realización de este estudio se obtuvo la aprobación del Comité Ético del Hospital.

Al 99,9 % de estos pacientes se les había solicitado una EFs o IFs en la misma petición que la IFo en días anteriores. Clasificamos estos 763 pacientes en 3 grupos:

1. EFs no sospechosa de PM (NSPM) (238).
2. EFs sospechosa de PM (SPM) (414).
3. Pacientes con MM diagnosticados que estaban en diferentes fases de respuesta al tratamiento (111).

Se consideró una EFS no sospechosa cuando se observó un patrón normal o un patrón policlonal perfectamente definido.

Se consideró una EFs sospechosa en los siguientes casos:

- Cuando se observó un pico alto y delgado de más o menos altura, en la región gamma o en la beta, y más rara vez, en la región de la globulina alfa 2 (18).
- Cuando coexisten pequeños picos semicultos coincidiendo en las fracciones beta o gamma globulinas (18,19).
- Cuando se objetiva hipogammaglobulinemia (20).

### Obtención de las muestras

Las muestras séricas fueron extraídas entre las 8-10 horas de la mañana, obteniéndose el suero por centrifugación a 3000 rpm durante 5 minutos. La EFs se realizó la misma mañana. La IFs fue realizada tras conservar las muestras séricas 24 horas a 4 °C.

La cuantificación de Kappa y Lambda se realizó en orina de 24 horas, en la misma mañana de la recepción, tras centrifugarse a 3000 rpm durante 10 minutos (20,21). Se congeló una alícuota a -20 °C sin conservantes hasta el momento de la realización de la IFo. Debido a que el límite de detección mínimo de la IFo para las cadenas ligeras era de 3 mg/l con los antisueros anti-Kt y anti-Lt, todas las orinas con una concentración de Kt y Lt totales < 25 mg/l fueron concentradas 100 veces, con concentradores minicon B15 (Merck Millipore LTD).

### Métodos analíticos

La EFs fue realizada usando un sistema de electroforesis capilar, CAPILLARYS 2 (Sebia, París-Francia). Las IFs e IFo se realizaron en el sistema semiautomático

Hydrasis (Sebia, París-Francia), siguiendo el protocolo de trabajo establecido por Sebia para la realización de las IFs e IFo en el gel de agarosa (Hydragel 2/4 IF e Hydragel 2/4 IF BJ).

La cuantificación de cadenas ligeras totales en orina se realizó por nefelometría en un autoanizador BN Prospec (Siemens, Marburg-Alemania), utilizando los reactivos *N Antisera to Human Immunoglobulin/K* y *N Antisera to Human Immunoglobulin/L* (Siemens), con una sensibilidad de 7,1 mg/l y de 3,9 mg/l respectivamente.

### Métodos estadísticos

El análisis estadístico fue realizado usando la hoja de cálculo Excel (Microsoft Office Software) y el programa estadístico SPSS (20.0) para Windows.

Se utilizaron curvas de eficacia diagnóstica *receiver operating characteristic (ROC)* para establecer los puntos de corte más adecuados en función de la sensibilidad y especificidad.

## RESULTADOS

El rango de normalidad calculado para el cociente Kt/Lt se situó entre 0,75-3,86.

Al realizar la curva ROC (Fig. 1), se eligió un cociente Kt/Lt > 8 para detectar una PBJ Kappa, y < 0,7 para detectar una PBJ Lambda, con una sensibilidad del 61 % y 100 % y una especificidad del 55 % y 34,8 % respectivamente.

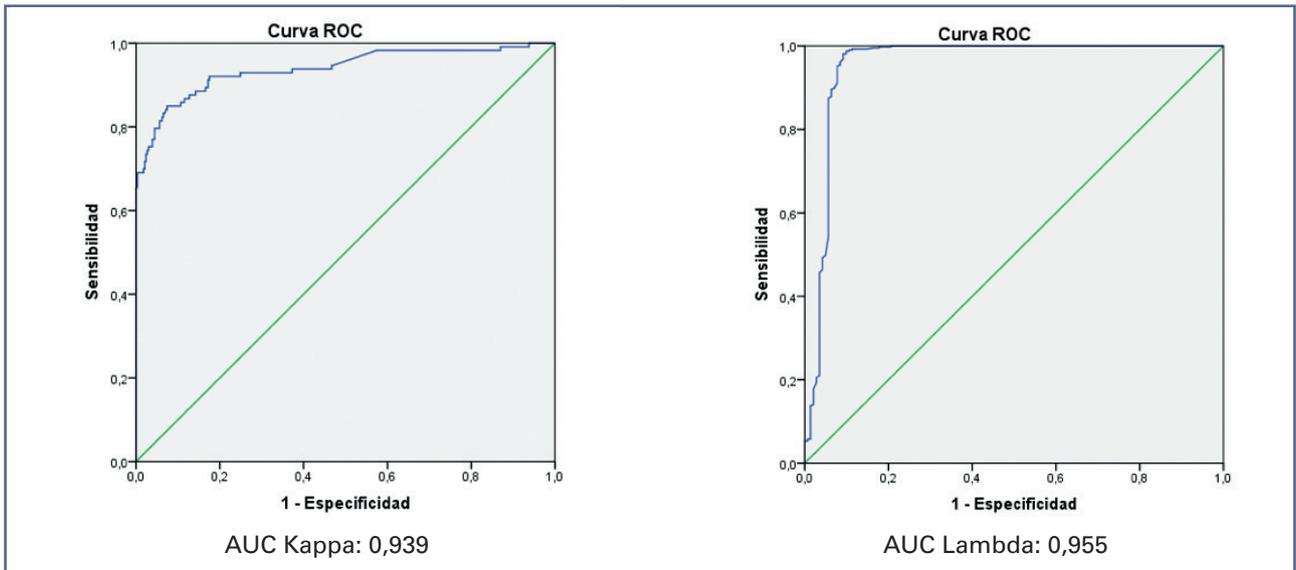
De las 763 orinas, 225 presentaron un cociente Kt/Lt < 0,7 o > 8, todas con IFo positiva (68 de ellas correspondían al grupo de MM en diferentes fases de tratamiento). Este cociente detectó una PBJ con un valor predictivo positivo (VPP) del 100 % (Tabla I).

Con un cociente Kt/Lt comprendido entre 0,7-8, se encontraron 495 orinas, ninguna perteneciente a MM en tratamiento. De estas 495 orinas, 226 (45,45 %) mostraron una EFs NSPM, presentando todas IFs no detectable. Las 269 restantes (54,54 %), tuvieron una EFs SPM. De estas, 119 presentaron una IFs no detectable y en 150 la IFs objetivó una PM. De estas 495 orinas, 59 presentaron PBJ (Fig. 2).

De estas 59 orinas con PBJ, 45 (76,27 %), presentaron una EFs sospechosa de proteína monoclonal (PM), IFs positiva y Kt en orina > 7,1 mg/l y Lt > 3,9 mg/l (Tabla II).

En la tabla III podemos observar la probabilidad de diagnóstico de una PBJ teniendo en cuenta una EFS SPM, una EFs positiva o una concentración de kt en orina > 7,1 mg/l y Lambda total > 3,9 mg/l.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, se propuso un algoritmo para cribar las posibles PBJ y disminuir el número de IFo a realizar (Fig. 3).

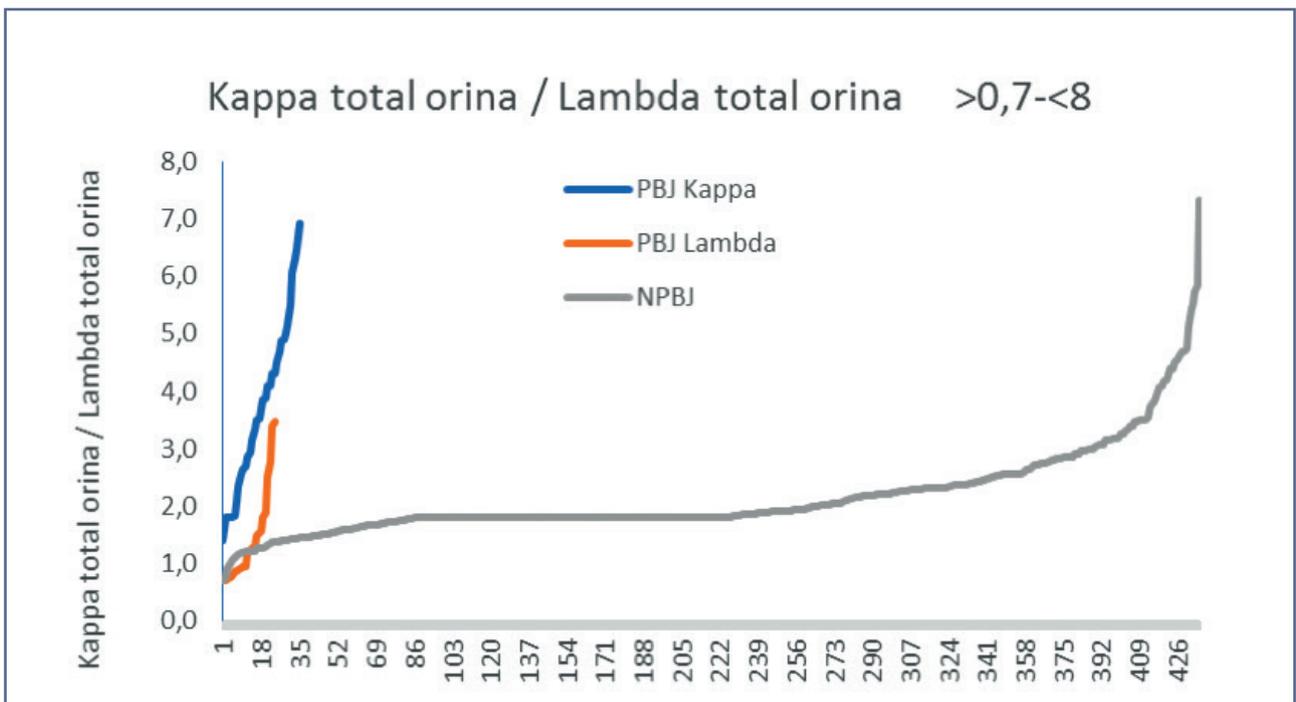


**Figura 1** – Curvas de eficiencia diagnóstica (ROC) para el cociente Kappa total/Lambda total para la detección de proteinuria de Bence-Jones (AUC: área bajo la curva).

**Tabla I.**

**Valor predictivo positivo (VPP) para detectar proteinuria de Bence-Jones (PBJ) con unos valores discriminantes para Kt/Lt en orina < 0,7 o > 8**

	Sensibilidad %	Especificidad %	VPP %	VPN %
Kt/Lt < 0,7 o > 8 identifica PBJ con respecto a la población total	66,5	100	100	85,7



**Figura 2** – Proteinuria de Bence Jones en orinas con cociente Kt/Lt 0,7-8 (PBJ Kappa: proteinuria de Bence Jones tipo Kappa; PBJ Lambda: proteinuria de Bence Jones tipo Lambda; NPBJ: no proteinuria de Bence Jones).

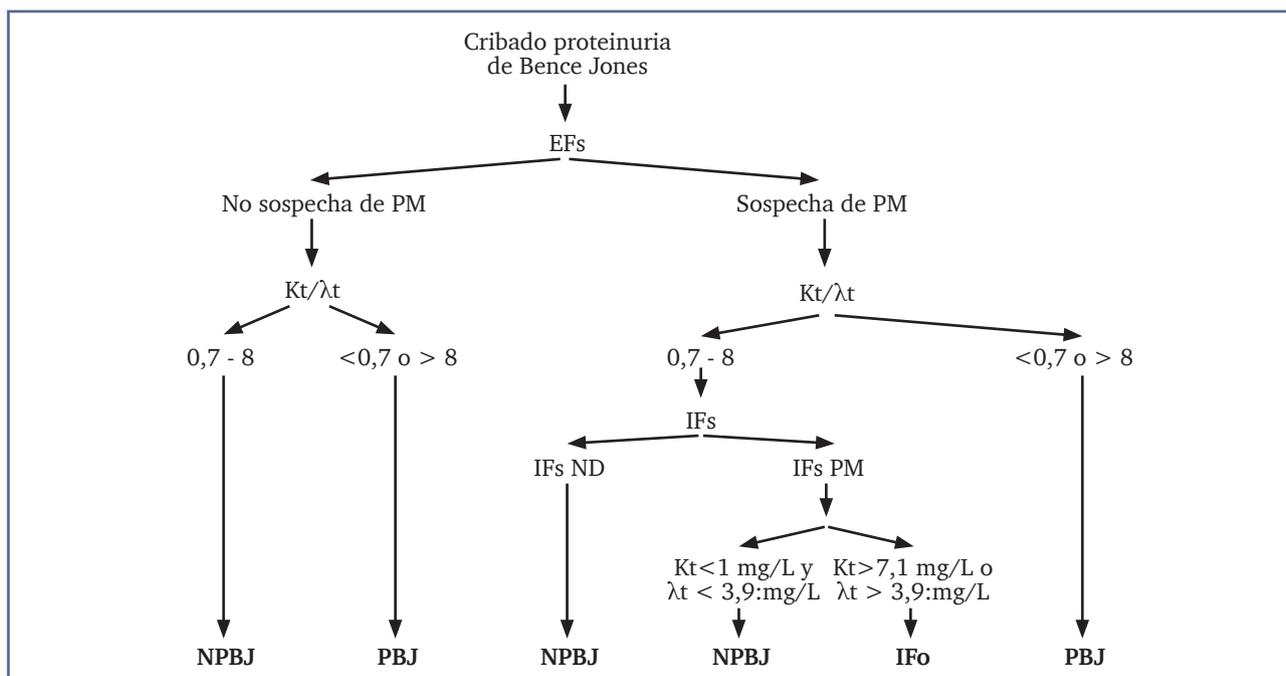
**Tabla II.**  
Distribución de las 59 PBJ con cociente Kappa total/Lambda total 0,7-8

Orinas Kt/Lt 0,7 - 8				
Grupos	Total (495)	PBJ (59)	% PBJ respecto total de su grupo	% PBJ respecto total PBJ (59)
EFs NSPM	226	4	1,76	6,77
EFs SPM + IFs ND	119	5	4,2	8,47
EFs SPM + IFs positiva + Kt < 7,1 mg/l y Lt < 3,9 mg/l	67	5	7,4	8,47
EFs SPM + IFs positiva + Kt > 7,1 mg/l y Lt > 3,9 mg/l	83	45	54,2	76,27

PBJ: proteinuria de Bence Jones. EFs NSPM: electroforesis de proteínas séricas no sospechosa de proteína monoclonal. SPM: sospecha de proteína monoclonal. IFs: inmunofijación sérica. ND: no detectable. Kt: Kappa total orina. Lt: Lambda total orina.

**Tabla III.**  
Probabilidad de diagnóstico de la PBJ (proteinuria de Bence-Jones), teniendo en cuenta una EFS SPM (electroforesis de proteínas séricas sospechosa de proteína monoclonal), IFs (inmunofijación sérica) o Kappa total en orina > 7,1 mg/l y Lambda total en orina > 3,9 mg/l

Kt/Lt > 0,7 - < 8	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
EFs SPM	92,9	50,6	19,6	98,2
IFs detectable	88 %	77,5	34,6	97,9
EFS SPM + IFs detectable	93,2	51,14	20,4	98,2
Kappa total > 7,1 mg/l y Lambda total > 3,9 mg/l	91,5	32,8	15,8	96,4
EFs SPM + Kt > 7,1 mg/dL y Lt > 3,9 mg/dL	100	17,8	14,1	100
IFs detectable + Kt > 7,1 mg/dL y Lt > 3,9 mg/dL	100	22,4	14,8	100
EFs SPM + IFs detectable + Kt > 7,1 mg/l y Lambda > 3,9 mg/l	100	17,8	14,1	100



**Figura 3** – Algoritmo para cribado de proteinuria de Bence Jones (PBJ) (EFS: electroforesis de proteínas séricas; Kt: Kappa total orina; λt: Lambda total orina. IFs: inmunofijación sérica; ND: no detectable; PM: proteína monoclonal; NPBJ: no proteinuria de Bence Jones).

## DISCUSIÓN

Aunque en el laboratorio de análisis clínicos, la IFO es el método más sensible y específico para identificar una PBJ, en la práctica diaria, se utilizan diferentes puntos de corte para el cociente Kt/Lt con el objetivo de disminuir el número de IFO a realizar. Sin embargo, estos puntos de corte plantean problemas; con resultados obtenidos por encima o por debajo de ellos, encontramos falsos positivos, y de la misma forma, con valores obtenidos entre estos puntos de corte encontramos resultados falsos negativos.

Entre los diferentes autores, algunos se centran más en establecer unos puntos de corte a partir de los cuales se pueda diagnosticar una PBJ, como Boege y cols., que usando un punto de corte  $< 1$  o  $> 5,2$  refieren una sensibilidad del 100 % y una especificidad del 98,6 % para detectar MM con PBJ (16). Sin embargo, en nuestro estudio, para valores comprendidos entre 1-5,2 encontramos 479 orinas, 42 (8,76 %) de ellas con IFO positivas.

Otros autores, se centran más en descartar una PBJ. De esta forma, Levinson y cols. propusieron un punto de corte entre 0,75-3,1, no encontrando PBJ dentro de este intervalo (14). En nuestro estudio de 424 orinas con cociente entre 0,75-3,1, encontramos 32 (7,5 %) IFO positivas dentro de este intervalo.

También Bergón y cols. proponen que con un punto de corte entre 1-2,8, se descarta el 68,2 % de las investigaciones de PBJ en especímenes con proteinuria patológica (12). Entre 1-2,8 de 390 orinas, 22 (5,6 %) tuvieron IFO positiva, de ellas 7 presentaron microalbuminuria, 6 macroalbuminuria y 2 proteinuria en rango nefrótico.

En nuestro estudio, con un cociente Kt/Lt  $< 0,7$  o  $> 8$ , 59 orinas tuvieron PBJ.

Una EFS NSPM, una IFs no detectable en el caso de EFS SPM y una concentración de Kt y Lt  $< 7,1$  mg/l y  $< 3,9$  mg/l presentaron unos VPN del 98,2 %, 97,9 % y 96,4 % para descartar una PBJ, llegando al 100 % si estas orinas presentaban una concentración de Kt y Lt  $< 7,1$  mg/l y  $< 3,9$  mg/l junto a una EFS NSPM o IFs no detectable.

Por tanto, tal y como muestra el algoritmo, dentro del intervalo Kt/Lt entre 0,7 y 8, aquellas orinas que presentaran EFS SPM, IFs positiva y Kt  $> 7,1$  mg/l y Lt  $> 3,9$  mg/l sería necesario realizarles IFO para descartar PBJ, en nuestro estudio, al 15,9 % del total.

## CONCLUSIONES

Un cociente Kt/Lt  $< 0,7$  o  $> 8$  nos permite poner de manifiesto una PBJ en el 100 % de orinas no diagnosticadas de MM.

Una EFS NSPM, una IFs no detectable en el caso de EFS SPM o una concentración de Kt  $< 7,1$  mg/l y Lt  $< 3,9$  mg/l, nos descarta una PBJ con unos VPN del 98,2 %, 97,9 % y 96,4 %, respectivamente.

La realización de IFO para realizar un cribado de PBJ en orinas con cociente Kt/Lt comprendido entre 0,7-8, se le debe de realizar a aquellas orinas que presenten una EFS SPM, IFs positiva y Kt  $> 7,1$  o Lt  $> 3,9$  mg/l.

## BIBLIOGRAFÍA

- Martínez-Brú C, García Sanz R, Martínez-López J. Recomendaciones para el estudio de las gammopatías monoclonales. Documento de consenso. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (SEQC) y Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (AEHH). Comité Científico. Comisión de Proteínas1 (SEQC) y Grupo Español de Mieloma2 (AEHH). Documento I. Fase 3. Versión 3. Documentos de la SEQC 2009.
- International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003;121:749-57.
- Merlini G, Aguzzi F, Wicher J. Monoclonal gammopathies. *JIFCC* 1997;9:171-6.
- Aguzzi F, Wicher JT, Johnson AM. Bence Jones protein. En: Ritchie RF, Navolotskaia O, editors. *Serum proteins in Clinical Medicine*, Scarborough, Maine. 1st ed. Foundation for Blood Research & Beckman Instruments Inc, 1996;1:11.04.
- Dammaco F, Waldestrom J. Serum and urine light chain levels in benign monoclonal gammopathies, multiple myeloma and Waldenström's macroglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 1968;3:911-21.
- Beetham R. Detection of Bence Jones protein in practice. *Ann Clin Biochem* 2000;37:563-70.
- Viedma Contreras JA. Aspectos clínicos y de laboratorio de las proteínas de Bence Jones. *Ed Cont Lab Clín* 2005;8:27-32.
- Pascali E. Bence Jones proteins identified by immunofixation electrophoresis of concentrated urine. *Clin Chem* 1994;40:945-6.
- Matsuda K, Hiratsuka N, Koyama T, Kurihara Y, Hotta O, Itoh Y, et al. Sensitive method for detection and semiquantification of Bence Jones protein by cellulose acetate membrane electrophoresis using colloidal silver staining. *Clin Chem* 2001;47:763-6.
- Sheat JM, Lorier MA. A simple silver-staining technique for detecting Bence Jones proteins in unconcentrated urine. *Clin Chem* 1987;33:561-3.
- Aguzzi F, Gasparro C, Bergami R, Merlini G. High sensitivity electrophoretic method for the detection of Bence Jones protein and for the study of proteinuria in unconcentrated urines. *Ann Clin Biochem* 1993;30:287-92.
- Bergón E, Bergón M. Uso del cociente cadenas kappa/cadenas lambda en orina para el estudio de la proteína de Bence Jones. *Quim Clin* 1999;18:266-70.
- Graziani M, Merlini G, Petrini C. Guidelines for the Analysis of Bence Jones Protein. IFCC Committee on Plasma Proteins; SIBioC Study Group on Proteins. *Clin Chem Lab Med* 2003;41(3):338-46.
- Levinson SS. An algorithmic approach using k/l ratios to improve the diagnostic accuracy of urine protein electrophoresis and to reduce the volume required for immunoelectrophoresis. *Clin Chim Acta* 1997;262:121-30.
- Martínez-Brú C, Cortés M. Protocolo de estudio de la proteinuria. Documento de la Comisión de Proteínas de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. *Química Clínica* 1998;17:389-91.
- Boege F, Koehler B, Liebermann. Identification and quantification of Bence-Jones proteinuria by automated nephelometric screening. *J Clin Chem Clin Biochem* 1990;28:37-42.
- Abraham RS, Clark RJ, Bryant SC, Lymp JF, Larson T, Kyle RA, et al. Correlation of serum immunoglobulin free light chain quantification with urinary Bence Jones protein in light chain myeloma. *Clin Chem* 2002;48(4):655-7.
- Alexanian R, Weber D, Liu F. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:108-13.
- Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *British Journal of Haematology* 2003;121:749-57.
- Kyle RA. Sequence of testing for monoclonal gammopathies. Serum and urine assays. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:114-8.
- Keren DF, Alexanian R, Goeken JA, Gorevic PD, Kyle RA, Tomar RH. Guidelines for clinical and laboratory evaluation of patients with monoclonal gammopathies. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:106-7.



## Revisión

# Epidemiología, detección de resistencias y tropismo de VIH-1: puesta al día

## *Epidemiology, detection of resistance and tropism of HIV-1: update*

Miriam Albert Hernández<sup>1</sup> y Ángel San Miguel Hernández<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Complejo Asistencial de Zamora. Hospital Virgen de la Concha. Zamora. Universidad de Salamanca. Salamanca. <sup>2</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid

**Recibido:** 31/03/2020  
**Aceptado:** 12/05/2020

**Correspondencia:** Miriam Albert Hernández. Servicio de Microbiología. Complejo Asistencial de Zamora. Hospital Virgen de la Concha. Avda. de Requejo, 35. 49022 Zamora  
e-mail: malbert@saludcastillayleon.es

### Palabras clave:

VIH-1. Epidemiología. Resistencia a fármacos. Tropismo viral.

### RESUMEN

La infección por VIH-1 supone el 98 % de casos a nivel mundial. Se caracteriza por su enorme diversificación y rápida evolución, marcada por una distribución geográficamente definida de varios virus genéticamente distintos. El VIH-1 pandémico actual está filogenéticamente dividido en 4 grupos: M, N, O y P. Solo el grupo M (9 subtipos y más de 98 formas recombinantes circulantes, -CRFs- en inglés) se ha diseminado a lo largo de África y al resto de continentes, siendo la distribución de subtipos y CRFs heterogénea (CRF02\_AG es el más prevalente en Camerún). Dentro de algunos subtipos, la elevada variación genética ha derivado en la clasificación de sub-subtipos, en constante actualización. El subtipo más predominante en Europa es B, responsable de un 66 % de los casos y de un 11 % a nivel mundial y es del que más información se dispone y frente al que se han diseñado la mayoría de fármacos antirretrovirales (ARV). La emergente diversidad genética y dinamismo del VIH-1 precisa de constante monitorización, representando un reto para un óptimo diagnóstico y tratamiento. Diferentes métodos diagnósticos están disponibles para estudio de resistencias a ARV así como para determinar el tropismo del virus, fundamental para pautar Maraviroc (potente alternativa con escasas resistencias). Los métodos genotípicos son de elección para ambos propósitos aunque en la determinación de resistencias tienen más valor para

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00014

Albert Hernández M, San Miguel Hernández A. Epidemiología, detección de resistencias y tropismo de VIH-1: puesta al día. Rev Med Lab 2020;1(1):10-20

detectar resistencia que para predecir sensibilidad. Los más empleados para la detección del tropismo viral son WebPSSM y Geno2Pheno-(G2P) siendo el algoritmo G2P con una tasa de falsos positivos del 5 % el que podría facilitar una predicción fiable en la práctica clínica.

**Keywords:**

HIV-1. Epidemiology. Drug resistance.  
Viral tropism.

**ABSTRACT**

HIV-1 infection accounts for 98 % of cases worldwide. It is characterized by its enormous diversification and rapid evolution, marked by a geographically defined distribution of several genetically distinct viruses. The current pandemic HIV-1 is phylogenetically divided into 4 groups: M, N, O and P. Only the M group (9 subtypes and more than 98 circulating recombinant forms –CRFs-) has spread throughout Africa and the rest of continents, the distribution of subtypes and CRFs being heterogeneous (CRF02\_AG is the most prevalent in Cameroon). Within some subtypes, the high genetic variation has led to the classification of sub-subtypes, constantly updated. The most predominant subtype in Europe is B, responsible for 66 % of cases and 11 % worldwide and for which the most information is available and against which most antiretroviral drugs (ARD) are designed. The emerging genetic diversity and dynamism of HIV-1 requires constant monitoring, representing a challenge for optimal diagnosis and treatment. Different diagnostic methods are available to study resistance to ARD as well as to determine the tropism of the virus, essential to guide Maraviroc (a powerful alternative with little resistance). Genotypic methods are of choice for both purposes, although in resistances determination they have more value to detect resistance than to predict sensitivity. The most used for viral tropism detection are WebPSSM and Geno2Pheno-(G2P), being the algorithm G2P with 5 % false positive rate which could provide a reliable prediction in clinical practice.

**INTRODUCCIÓN**

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) continúa siendo responsable de una de las enfermedades más devastadoras de la historia de la humanidad y causa más de 37 millones de infecciones, según los datos más recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1). Pertenece a la familia *Retroviridae*, género *Lentivirus* y existen dos tipos de VIH: VIH-1 y VIH-2. La infección por el VIH-1 es la más prevalente y supone el 98 % de los casos totales que existen en el mundo. No se tiene tanta información del VIH-2, enfermedad similar pero de evolución mucho más lenta y benigna, que se limita casi exclusivamente a determinadas zonas de África Occidental. Durante los últimos 30 años, el VIH-1 ha evolucionado a diferentes subtipos e incluso sub-subtipos hasta convertirse en una epidemia altamente heterogénea estructurada en múltiples subepidemias, cada una de ellas influenciada por factores biológicos, conductuales y culturales (2-4). En los laboratorios de Análisis Clínicos y Microbiología, la determinación de resistencia genotípica del VIH-1 frente a fármacos antirretrovirales (ARV), así como la determinación de su tropismo (en caso de instaurar tratamiento con un antagonista de los correceptores CCR5), es

fundamental en el trabajo clínico-asistencial e imperativa en el caso de pacientes con fracaso virológico. En este sentido, las nuevas técnicas de biología molecular, secuenciación masiva y el apoyo de prácticas y fiables herramientas bioinformáticas son cruciales para facilitar esta labor a los facultativos especialistas. Asimismo, estas técnicas y herramientas están en constante actualización, adaptación y evolución, de manera que se requiere una puesta al día en las mismas.

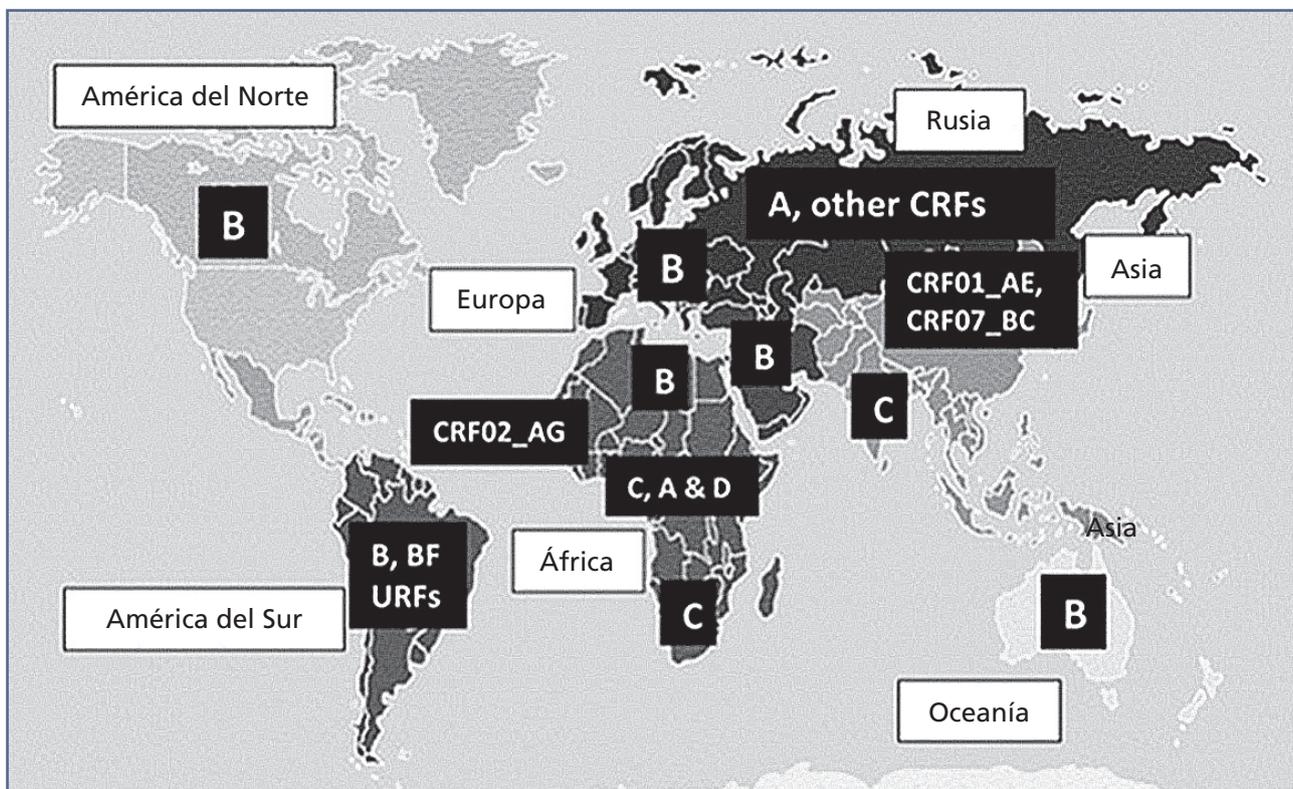
**EPIDEMIOLOGÍA**

Genéticamente, el VIH-1 se caracteriza por su enorme diversificación y rápida evolución (5). El VIH-1 pandémico actual está filogenéticamente dividido en 4 grupos diferentes denominados M ("main" o principal por su mayor prevalencia), N (no-M/no-O), O (atípicos) y el más reciente P (6-8). La recombinación genética parece ser un factor importante en dicha diversificación genética (9). Además, a pesar de la fuente viral común, los grupos VIH-1 mostraron patrones diferenciales de propagación en todo el mundo (10-12). Los virus pertenecientes a los grupos N, O, y P están principalmente restringidos a Camerún y países aledaños, aunque se

han detectado algunas de estas variantes fuera de esta región (10,13). Por el contrario, los virus grupo M se han diseminado de manera pandémica y son responsables de la mayoría de casos de infección por VIH a nivel mundial. Actualmente, el grupo M epidémico está formado a su vez por 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J, K) y más de 98 formas recombinantes (<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>). Solo el VIH-1 grupo M se ha diseminado a lo largo de África y a todos los otros continentes, siendo la distribución de sus subtipos y *Circulating Recombinant Forms* (CRFs) heterogénea. Dentro de algunos subtipos, la elevada variación genética ha derivado en la clasificación de sub-subtipos. Así, el subtipo A ha sido subdividido en A1, A2, A3, A4, A5, A6 y el más reciente descubierto el A7; el subtipo D en D1, D2, D3 y el F en F1 y F2 (6,14-16). Esta elevada tasa evolutiva asociada especialmente a los subtipos dentro del grupo M del VIH-1, puede afectar al desarrollo de la pandemia, de modo que ha sido posible su utilización como potente marcador epidemiológico para rastrear el curso de la misma. Sin embargo, a pesar del uso potencial de las diferencias genéticas evolutivas como marcador en estudios epidemiológicos sobre el origen y la diseminación de la pandemia, no está claro si estas variantes genéticas influyen en el resultado clínico de la infección por VIH-1 (17). Algunos estudios sugieren que el subtipo viral puede afectar a la transmisión, progresión de la enfermedad y la tasa evolutiva, y además puede

afectar potencialmente a la resistencia a los fármacos antivirales (18-22). El subtipo más frecuente en Europa es el B, responsable de aproximadamente un 66 % de todos los casos (23) y de un 11 % a nivel mundial (24); es, además, del que más información se dispone actualmente y frente al que se han diseñado la mayoría de los fármacos antirretrovirales (25). Hasta la fecha, se han detectado 4 variantes genéticas diferentes del subtipo B: subtipo B', que circula principalmente en Tailandia y otros países asiáticos; una variante específica hallada primordialmente en Trinidad y Tobago; la variante GPGS, descrita primariamente en Corea; y la variante GWGR, detectada principalmente en Brasil (24). Estas variantes representan subclados bien establecidos del subtipo VIH-1 que circulan en regiones específicas alrededor del mundo (19,26-29).

La vigilancia constante de las variantes virales emergentes de subtipos no B es crítica para asegurar que las pruebas sanguíneas de cribado y diagnósticas detectan todas las infecciones independientemente de la cepa o localización geográfica. En un estudio realizado en el sur de Camerún (30) la caracterización molecular de 555 muestras de VIH-1 identificó gran diversidad: 7 subtipos, 12 CRFs, 6 no clasificados, 24 grupo O y 2 grupo N. Otro estudio, analizando esta vez el noroeste de Camerún (14), concluyó que CRF02\_AG era el más prevalente y además podría tener importantes consecuencias clínicas y de salud pública. Dentro de los CRFs descritos, el VIH-1 CRF01\_AE recombinante



**Figura 1** – Distribución global de los principales subtipos de VIH-1 y CRFs. Modificado de Bbossa N, et al. HIV subtype diversity world-wide. *Curr Opin HIV AIDS* 2019, 14:153-60 usando como fuente: [map-menu.com](http://map-menu.com).

es dominante en Asia (Fig. 1) donde la prevalencia es del 84 % y ha contribuido hasta un 4,6 % del total de infecciones VIH-1 en términos de distribución mundial (31). En algunos países europeos, el CRF01\_AE fue el segundo mayor recombinante entre los subtipos VIH-1 no B después de CRF02\_AG recombinante (32,33). Varios estudios subrayan la elevada prevalencia de tropismo X4 para CRF01\_AE recombinante asociado con una posible rápida progresión de la enfermedad (34).

Epidemiológicamente, existen intrigantes diferencias en la distribución de los casos VIH y/o síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) entre distintos grupos de riesgo en Europa (35). En Europa Occidental y Central los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) son el principal grupo de pacientes infectados (40,7 % y 28,3 % de los casos, respectivamente frente a un 4,4 % en Europa Oriental), mientras que la mayoría de los casos en Europa Oriental son usuarios de drogas inyectables (22,1 % frente a 3,1 % y 2,5 % en Europa Occidental y Central, respectivamente) (HIV/AIDS surveillance in Europe 2019) (36) (Tabla I). En cuanto

a la epidemiología molecular de VIH-1 en Europa todavía es altamente estratificada de acuerdo a género y grupo de riesgo. El subtipo B es significativamente más común en hombres que en mujeres y es todavía proporcionalmente mayor en HSH que en usuarios de drogas inyectables o individuos heterosexuales (23). Esta estratificación por grupos de riesgo está con gran probabilidad relacionada con el comienzo de la epidemia y puede reflejar la persistencia epidemiológica de los efectos precursores (24). Sin embargo, según el último informe anual europeo, los porcentajes globales en población homosexual (HSH) y heterosexual se van acercando (39,8 % vs. 32,5 %, respectivamente) (36). En Europa Occidental, el VIH-1 epidémico entre HSH está dominado por el subtipo B. Respecto a España, un reciente estudio (37) mostró que el VIH-1 epidémico entre HSH se está volviendo cada vez más diverso a través de la expansión de diversos clados de subtipos no B, que abarcan o están relacionados con virus que circulan en otros países.

**Tabla I.**  
**Características de los nuevos casos VIH informados en la OMS Región de Europa, 2018**

	Región Europea (OMS)	Oeste	Centro	Este	EU/EEA
Países informantes/Número de países	50/53	23/23	15/15	12/15	31/31
Número de nuevos diagnósticos de VIH	141.552	23.483	6.519	111.550	26.164
Tasa por 100 000 habitantes	16,2	6,0	3,3	44,8	5,6
Porcentaje de edad de 15-24 años	8,8 %	10,3 %	13,5 %	6,0 %	10,6 %
Porcentaje de edad 50+ años	17,5 %	21,4 %	14,8 %	14,6 %	19,8 %
Relación hombre-mujer	1,8	2,9	5,6	1,6	3,1
Porcentaje de nuevos diagnósticos < 350 CD4/mm <sup>3</sup>	52,8 %	48,8 %	54,6 %	55,5 %	49,4 %
Número de nuevos diagnósticos de SIDA	14.227	2.549	857	10.821	3.235
Tasa diagnóstico SIDA por 100.000 habitantes	2,0	0,6	0,4	10,5	0,6
<b>Modo de transmisión</b>					
Sexo entre hombres	22,6 %	40,7 %	28,3 %	4,4 %	39,8 %
Transmisión heterosexual (hombres)	25,9 %	15,8 %	20,5 %	36,6 %	15,6 %
Transmisión heterosexual (mujeres)	23,8 %	18,0 %	7,5 %	33,4 %	16,9 %
Uso de drogas inyectables	11,8 %	3,1 %	2,5 %	22,1 %	3,7 %
Vertical	0,6 %	0,7 %	0,4 %	0,6 %	0,7 %
Desconocida	15,0 %	21,2 %	40,7 %	2,8 %	22,7 %

Adaptado de European Centre For Disease Prevention and Control, WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2019 - 2018 data. EU: European Union (Unión Europea); EEA: European Economic Area (Área Económica Europea).

## TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

El VIH posee una gran capacidad replicativa, generando en torno a  $10^9$  y  $10^{10}$  viriones al día (38). Esto implica que durante su proceso de replicación la transcriptasa inversa (TI) continuamente comete errores, provocando la coexistencia de diferentes especies o cuasiespecies. Esta es una de las causas que explica por qué solo un fármaco para tratar la infección no es suficiente para evitar la posible y precoz resistencia del VIH al tratamiento establecido. Desde que se dispone de fármacos ARV con los que formar combinaciones potentes, se han logrado beneficios enormes en la reducción de la morbimortalidad y de la transmisión de la infección por el VIH-1. Paralelamente, el uso de estos fármacos ha adquirido gran complejidad por la aparición continua de diferentes fármacos en las distintas familias, así como sus múltiples facetas en cuanto a eficacia, toxicidad, resistencias, tropismo, interacciones, etc., y su uso en situaciones clínicas especiales, como la prevención de la transmisión (profilaxis pre-exposición).

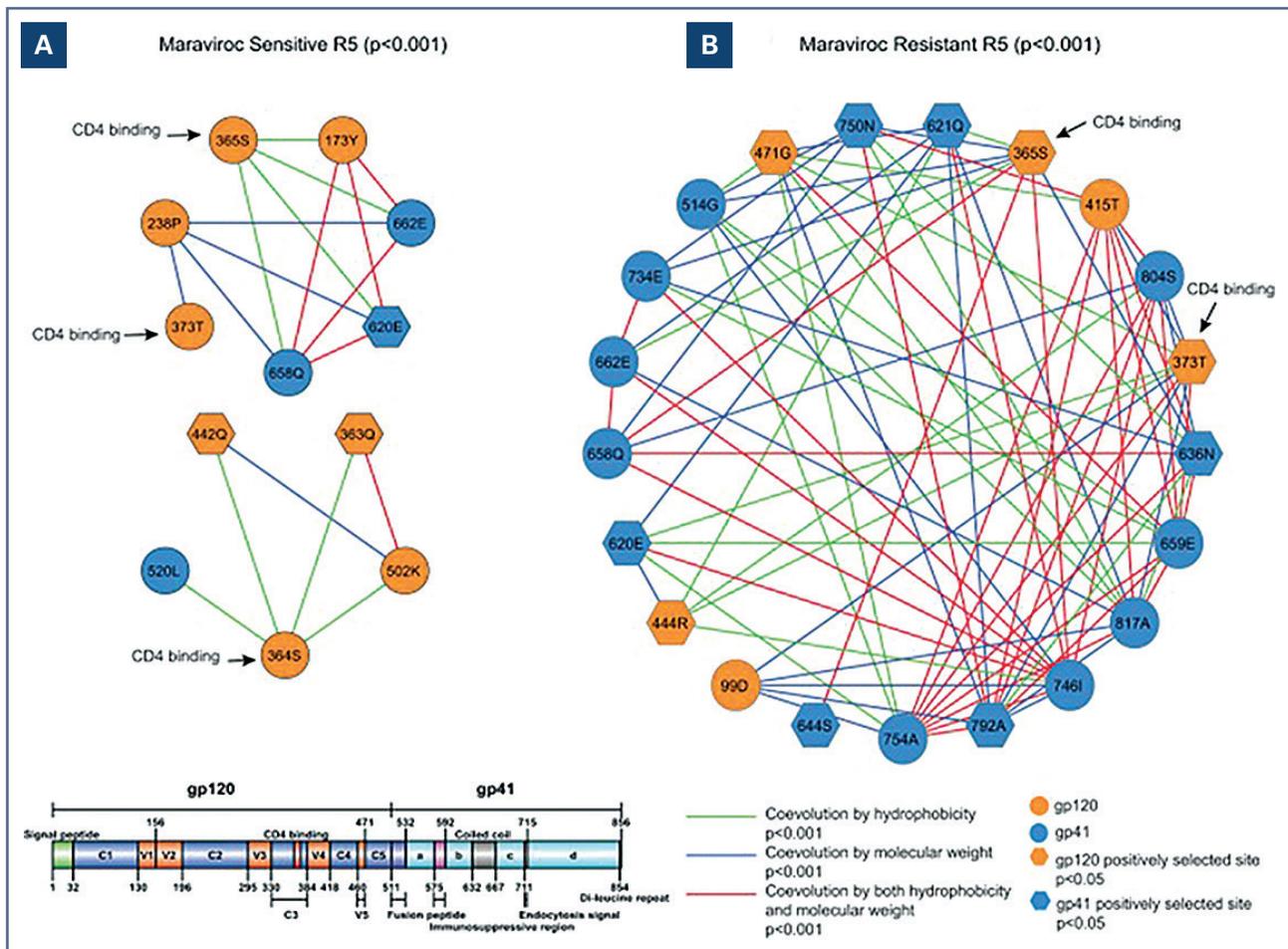
Las terapias ARV disponibles actualmente permiten retrasar durante muchos años la aparición del SIDA y prolongan el periodo de estabilidad asintomática característico de las personas con VIH que aún tienen un sistema inmune lo suficientemente fuerte. El VIH se integra en el genoma de la célula huésped (ADN proviral), donde puede permanecer en estado de latencia durante periodos prolongados. El problema se agudiza por su capacidad para infectar distintas células y tejidos, de manera especial el sistema nervioso central al que muchos fármacos no pueden acceder en concentraciones útiles por su incapacidad para atravesar la barrera hematoencefálica.

Esta complejidad del VIH hace necesario diseñar de la manera más racional posible diversos esquemas terapéuticos dirigidos a actuar en las distintas etapas del ciclo de replicación viral. Hasta la fecha, se han comercializado fármacos ARV pertenecientes a 7 familias con actividad sobre las distintas etapas del ciclo de replicación viral (39). De ellas, cuatro inhiben enzimas del ciclo intracelular y el resto actúan antes de la entrada del retrovirus a la célula diana. No es objeto de esta revisión entrar en detalle del tratamiento ARV pero a continuación estas familias se describen brevemente, y especialmente, el antivírico Maraviroc (MRV) puesto que es objeto de determinados métodos diagnósticos para optimizar su efectividad en los pacientes.

- *Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN/ITIANt)*. Previamente a su acción, en el interior de la célula diana, tiene lugar una transformación metabólica de estos fármacos consistente en la incorporación de 3 o 2 moléculas de fosfato, respectivamente, para ser activos. A continuación inhiben a la TI mediante su incorporación a la cadena de ADN impidiendo así la replicación del genoma viral. El grupo de ITIAN es numeroso e incluye, entre otros, ab-

cavair, emtricitabina, lamivudina, zidovudina... mientras que tenofovir (TDF) (con sus formulaciones TDF disoproxil fumarato y TDF alafenamida) es el único integrante de ITIANt.

- *Inhibidores no análogos de nucleósidos (ITINN)* que inhiben también a la TI, pero que en este caso no precisan transformarse para ser activos. Algunos ejemplos son nevirapina, efavirenz, rilpivirina...
- *Inhibidores de la proteasa (IP)* que actúan al final del ciclo intracelular. Al bloquear a la proteasa del VIH, la poliproteína sintetizada por el virus no puede cortarse por los lugares adecuados, impidiendo así el ensamblaje de nuevas partículas virales. Esta familia incluye diferentes fármacos (atazanavir, darunavir, lopinavir, tipranavir...) que para aumentar su efectividad siempre se emplean potenciados con dosis bajas de ritonavir o cobicistat; este último en caso de atazanavir o darunavir.
- *Inhibidores de la integrasa (IG)* que inhiben uno de los pasos (la reacción de transferencia de la cadena) del complejo proceso de la integración del ADN proviral del VIH en el ADN de la célula huésped. Es un grupo de fármacos en constante desarrollo y hasta la fecha disponemos de raltegravir, elvitegravir, dolutegravir y bictegravir.
- *Inhibidores de la fusión* que actúan en el primer paso del ciclo de infección viral y se unen a las glicoproteínas (gp) de la cubierta del virus necesarias para que este se adhiera y penetre en la célula huésped. En concreto, enfuvirtida (único fármaco de este grupo y poco utilizado en la actualidad) bloquea la unión de la gp41 al receptor.
- *Antagonistas de los correceptores*. MVC es un potente antagonista selectivo del correceptor CCR5 con actividad antiviral frente a aquellos aislados de VIH que usan este receptor para ingresar a los linfocitos T CD4+ (cepas R5) pero no contra aquellas usuarias de CXCR4 (cepas X4). Es capaz de bloquear la unión de la gp120 del VIH con el correceptor CCR5. Ha sido aprobado para su uso en pacientes con resistencia a otras familias de ARV ya que se prevé una elevada barrera para la adquisición de resistencia dada su unión extracelular a la molécula conservada CCR5. Sin embargo, a pesar de dicha limitación estructural, se han descrito aislados resistentes a MVC *in vivo* (40) (Fig. 2). En cualquier caso, sigue siendo una alternativa excelente con escasas resistencias y, debido a su particular mecanismo de acción, los pacientes deben realizarse una prueba diagnóstica de tropismo viral para asegurarse de que su cepa utiliza al receptor CCR5.
- *Inhibidores posfijación*. Esta familia representada únicamente hasta la fecha por ibalizumab (anticuerpo monoclonal autorizado en marzo de 2018 por la FDA) exhibe un mecanismo de acción diferente, bloqueando los receptores CD4 en la superficie de determinados inmunocitos que el VIH necesita para entrar a las células ([www.infosida.nih.gov](http://www.infosida.nih.gov)) (41).



**Figura 2** – Redes de covariación de los sitios de unión a CD4 asociados con hidrofobicidad y/ peso molecular para virus sensibles (A) y resistentes (B) R5. Los sitios de covariación se mapean a la estructura cristalina de la proteína gp120. Los sitios bajo selección positiva se muestran como hexágonos. Tomado de Jiang X, et al. Characterizing the diverse mutational pathways associated with R5-tropic Maraviroc resistance: HIV-1 that uses the drug-bound CCR5 coreceptor. *J Virol* 2015;89:11457-72.

Las pautas recomendadas para el tratamiento inicial de la infección por el VIH-1 en el momento actual consisten en una combinación de dos o tres fármacos. La terapia triple incluye dos ITIAN asociados a un ITINN, a un IP, o a un IG.

## PRUEBAS DE DETECCIÓN DE RESISTENCIAS PARA EL VIH

En la actualidad existen dos tipos de pruebas para la detección de resistencias a la terapia ARV: fenotípicas y genotípicas. Ambas ayudan a determinar a qué fármacos el VIH no responderá: las fenotípicas, consistentes en enfrentar al virus a diferentes concentraciones de un determinado fármaco y establecer el grado de inhibición comparando con cepas control, y las genotípicas, que emplean el análisis de la secuencia de ácidos nucleicos del virus para detectar la presencia de mutaciones de resistencia. Las pruebas genotípicas son las que tienen mayor difusión entre los laboratorios de

diagnóstico, mientras que los ensayos fenotípicos quedan reservados para laboratorios de investigación. Actualmente la utilización de las pruebas de resistencias se recomiendan en todas las guías de práctica clínica sobre tratamiento ARV. Se estima que la prevalencia global en España de resistencias primarias en los genes de la transcriptasa inversa y la proteasa es del 7,9 %. Por ello, se recomienda realizar un estudio genotípico de resistencias del VIH-1 en la TI y en la proteasa en todos los pacientes antes de iniciar el tratamiento ARV y solamente debe valorarse ampliar el estudio de resistencias a los IG antes de iniciar el tratamiento si hay evidencia de transmisión a partir de un paciente tratado con estos fármacos y/o se observa fracaso virológico (39).

## Pruebas genotípicas

Estas pruebas exigen que la base molecular de las resistencias esté suficientemente caracterizada, de tal

forma que la detección de una mutación sea predictiva de la falta de actividad de un determinado antivirico. Analizan muestras sanguíneas con VIH, con o sin fracaso virológico según el caso, para determinar si existen mutaciones en la secuencia primaria de nucleótidos del gen objeto de estudio (genes codificantes para la TI, proteasa, integrasa). Una vez que las mutaciones han sido identificadas, se comparan con amplias bases de datos que contienen una larga lista de mutaciones conocidas como causa de resistencia a determinados fármacos ARV. Estos resultados ayudarán a determinar qué fármacos ARV serían menos resistentes al VIH. Las pruebas genotípicas son de elección para la determinación de resistencias; tienen en general más valor para detectar resistencia (detección de una determinada mutación), que para predecir sensibilidad (ausencia de todas las posibles causas de resistencia). Los métodos comerciales más utilizados son TruGene® HIV-1 Genotyping Test (Siemens) y ViroSeq® HIV-1 Genotyping System (Abbott Diagnostics). El primero emplea la secuenciación bidireccional y la electroforesis en gel y permite investigar mutaciones en la TI y la proteasa, mientras que el segundo emplea el método unidireccional y la electroforesis capilar y permite investigar mutaciones en la TI, proteasa e integrasa. Ambos sistemas ofrecen un *software* para la edición de las secuencias y un algoritmo propio de interpretación. La secuencia obtenida por estos métodos de secuenciación poblacional es en realidad la secuencia promedio de todas las variantes presentes en la muestra original, siendo difícil detectar mutaciones que supongan menos del 10-20 % del total. Para asegurar la detección de las variantes que representan menos del 20 %, hemos de recurrir a otras técnicas: clonación de los productos de amplificación, PCR mediante diluciones límite o PCR-alelo específica a tiempo real, secuenciación masiva (42).

### Pruebas fenotípicas

Las pruebas fenotípicas, en lugar de detectar mutaciones específicas, miden la capacidad de reproducción del VIH en presencia de fármacos ARV. La ventaja del este tipo de pruebas es que dice exactamente a qué fármacos se hará resistente el virus. Miden la concentración de fármaco necesario para inhibir la replicación viral en cultivo celular. Los resultados se expresan generalmente en forma de cambios en la  $IC_{50}$  (concentración de fármaco requerida para reducir al 50 % la producción viral *in vitro*), comparando con una cepa control. La interpretación del valor de  $IC_{50}$  es diferente dependiendo del fármaco implicado. En la actualidad los métodos más utilizados están basados en el empleo de virus recombinantes que consiguen una mayor rapidez y reproducibilidad en los resultados. Consisten en la obtención de la secuencia de los genes de TI y proteasa del plasma de un paciente por medio de RT-PCR y su introducción dentro de un sistema ya estandarizado para la producción de un VIH recombinante capaz de

infectar una línea celular, incluyendo un procedimiento que facilita la lectura de los resultados. Ejemplos de métodos con virus recombinantes comercializados son: Antivirogram® (Tibotec-Virco), Phenosense® (Virologic) y Phenoscript® (Viralliance-SAS). La interpretación de los resultados de estos ensayos, aunque más intuitiva y sencilla, no está exenta de complicaciones, ya que analizan la sensibilidad fármaco a fármaco, y en la vida real las combinaciones pueden suponer un comportamiento diferente del meramente aditivo (42).

### Pruebas fenotípicas virtuales

Existe un tercer tipo de pruebas, combinación de las anteriores, denominadas fenotípicas virtuales. En primer lugar, se realiza una prueba genotípica para analizar si existen mutaciones. A continuación, se realizará una búsqueda, en una gran base de datos, del resultado de una prueba fenotípica de otra muestra de virus que tenga un patrón genotípico similar, es decir, se basa en la predicción del fenotipo a partir del genotipo. Un ejemplo de este tipo de herramientas es virco®Type HIV-1 que incorpora información sobre la resistencia a IP potenciados con ritonavir y, en determinados casos, incluye el consejo de expertos en la interpretación final (43). Estas muestras coincidentes pueden indicar cómo podría comportarse el virus. El fenotipo virtual es más rápido y menos caro que un test fenotípico, aunque, al igual que en el test genotípico, puede seguir siendo difícil predecir qué nuevos fármacos no responderán a virus muy resistentes.

### PRUEBAS DE DETECCIÓN DE TROPISMO VIRAL

Los dos principales correceptores involucrados en la entrada *in vivo* del VIH a la célula diana (principalmente, linfocitos T CD4+) son el CXCR4 y el CCR5. La selectividad de los correceptores está determinada por las secuencias genéticas de la gp120, particularmente en la región V3 altamente variable y estructuralmente flexible (44). Aquellas cepas de VIH que utilizan el correceptor CXCR4 para ingresar a la célula pero no el CCR5, se denominan virus CXCR4 trópico o X4. Las otras son las CCR5 trópicas o R5. Existen además, cepas con tropismo mixto o dual, capaces de utilizar ambos correceptores designadas R5/X4.

En un paciente la población de virus circulante está compuesta por una población pura en la que todas las cepas comparten el mismo tropismo (virus R5, X4 o R5/X4) o una población mixta compuesta por virus con diferentes tropismos. CCR5 es el principal correceptor existente en aquellos pacientes que adquieren el retrovirus por vía sexual. Asimismo, es el receptor predominante en los estadios iniciales de la infección en tanto que las variantes usuarias de CXCR4 emergen más tarde en coincidencia con una pérdida acelerada de linfocitos T CD4+ y una progresión rápida de la enfermedad. La mayoría de los pacientes que son tratados precoz-

mente alojan solo cepas R5 mientras que en aquellos con múltiples fracasos terapéuticos emergen las cepas X4. Esto se expresa por lo general como cepas mixtas; son raras las poblaciones con predominio de X4 y aún en pacientes tratados la mayoría de las cepas son R5. Por todo lo expuesto es de utilidad, antes de iniciar un tratamiento con MVC así como en caso de fracaso del mismo, efectuar un estudio de tropismo del VIH-1, existiendo para ello métodos fenotípicos y genotípicos.

## Pruebas fenotípicas

Las pruebas fenotípicas del tropismo (PFT) se basan en la generación de virus recombinantes. El gen de la envuelta es amplificado mediante RT-PCR a partir del plasma del paciente y mediante técnicas de clonaje o recombinación genética se generan virus quiméricos o pseudotipos que portan la envuelta del paciente. Estos virus son utilizados para infectar líneas celulares que expresan el receptor CD4 y uno de los dos correceptores principales del VIH-1, CCR5 o CXCR4. De esta manera, se define el tropismo viral conferido por la envuelta del paciente estudiado a partir del comportamiento del virus recombinante. La característica principal de estos métodos [ESTA-Trofile<sup>®</sup>, TropiTest (Instituto de Salud Carlos III-Fundación FIPSE), Toulouse Tropism Test (Universidad de Toulouse)...] es conseguir amplificar la envuelta completa del VIH-1 del paciente. Este aspecto es relevante ya que aunque la región V3 contiene los principales determinantes del tropismo viral existen otras regiones implicadas (V1, V2, C4) (42). Se han descrito diferentes PFT de VIH-1 como la utilización de la línea celular GHOST [línea celular derivada del osteosarcoma humano que expresa en su superficie celular CD4 y varios receptores de quimiocinas (CCR5, CCR3, CCR5, CXCR4)] (45) de virus generados a partir de clones individuales empleando la luciferasa *Renilla* para determinar la actividad o PFT replicativa (46).

Estos ensayos constituyen todavía el método de referencia para caracterizar el tropismo viral por su gran sensibilidad para detectar las variantes minoritarias CXCR4 y/o CCR5 en los subtipos B y no-B del VIH-1. Además, representan el único método para medir la resistencia a los antagonistas de CCR5. Sin embargo, presentan, además de un precio elevado, complicaciones técnicas y en especial logísticas que dificultan su utilización en la práctica clínica (43); solo están disponibles comercialmente en unos pocos países (40).

## Pruebas genotípicas

Las pruebas genotípicas del tropismo (PGT) se presentan como una alternativa más económica, rápida y factible de desarrollar localmente en cualquier laboratorio especializado de VIH-1 que cuente con tecnología para realizar la determinación de resistencias a ARV (43). Inicialmente, se describieron y desarrollaron

diferentes reglas y algoritmos de correlación genotipo-tropismo basados fundamentalmente en las características de la secuencia de aminoácidos de la región V3 de la envuelta viral. Las reglas genotípicas más simples como la regla 11/25, predicen X4 en base a la presencia de residuos básicos en la posición 11 o 25 de la región V3 (35 aminoácidos) de la gp120 del VIH-1 (47). Sin embargo, este algoritmo ha mostrado una sensibilidad limitada para la predicción del tropismo en las muestras clínicas actuales (48). Posteriormente, el estudio de la variabilidad natural en secuencias de V3 y su asociación con los fenotipos R5- o X4-tropicos, ha permitido la identificación de nuevos residuos y patrones de aminoácidos en la región V3 relacionados con el tropismo viral; cambios de polaridad (a arginina o lisina) en posiciones 11, 24 y 25 de dicha región determinarán el tropismo X4. Con los datos obtenidos y a través de la utilización de diferentes métodos estadísticos (Support Vector Machines-SVM, Position Specific Scoring Matrices-PSSM) y bioinformáticos se han diseñado sofisticados algoritmos de interpretación que permiten predecir el uso del correceptor del VIH-1 basándose en la secuencia genética de la región V3 de un determinado aislado viral. Algunos de ellos se encuentran disponibles en páginas web de libre acceso como son WetCat, Geno2pheno (G2P), WebPSSM y FortinbrasPSSM (42,49) (Tabla II). Diversos estudios han evaluado también la capacidad de predecir el tropismo viral combinando la información aportada por varios algoritmos, e incluso variables clínicas relacionadas con la infección por VIH-1. Estos métodos han conseguido mejorar la sensibilidad para detectar cepas X4, sin una pérdida significativa de especificidad (50).

El algoritmo de interpretación de más amplia difusión utilizado en los últimos años ha sido G2P[correceptor] (51); el método estadístico que utiliza para hacer sus predicciones es SVM. G2P puede realizar las predicciones tanto a partir de la secuencia FASTA de nucleótidos como de aminoácidos de la región V3. La base de datos en la que basa sus predicciones consiste en secuencias de V3 que se corresponden con un fenotipo R5, otras con un fenotipo X4 y secuencias con fenotipo R5X4. Sin embargo, la mayoría de estas secuencias son subtipo B, aunque también incluye algunas secuencias de otros subtipos genéticos. En general, todas las herramientas para manejar las PGT han sido desarrolladas ante todo para VIH-1B aunque ahora se están aplicando también con secuencias V3 recientemente disponibles de VIH-1 no-subtipo B (52). El servidor utilizado en G2P permite seleccionar en cada predicción el grado de sensibilidad para detectar variantes X4 del VIH-1 subtipo B, seleccionando la tasa de falsos positivos (TFP) en cada una de las predicciones. Más recientemente, la herramienta denominada PhenoSeq ha sido desarrollada para ser predictiva con confianza para el tropismo del VIH-1 subtipos A, B, C, D, 01\_AE y 02\_AG (52,53).

La última versión de G2P oferta la posibilidad de introducir datos clínicos adicionales como la carga viral, número de CD4+ y la presencia o ausencia de la dele-

**Tabla II.**  
**Características de herramientas informáticas para la detección de tropismo viral**

Herramienta	Método de predicción	Subtipo
T-CUP 2.0	Utiliza información estructural del bucle V3 modelando el potencial electrostático e hidrofobicidad; combinación de resultados por apilamiento	Subtipo B (principalmente) y C con 1351 secuencias (200X4 y 1151 R5)
Geno2pheno[coreceptor]	Máquina de vector de soporte para clasificación binaria	Subtipo B con 1100 secuencias (769 R5, 210X4, 131 R5X4) de 332 pacientes
PhenoSeq	Evaluación de la longitud del aminoácido V3 del VIH-1, carga de aminoácido neta, número de sitios ligados a N-glicosilación y la frecuencia de alteraciones de aminoácidos específicas del sitio	A, A1, A2, B, C, D, CRF_01_AE, CRF02_AG
WebPSSM x4r5	Matrices de puntuación, que reflejan la diferencia en la abundancia de un aminoácido particular en un sitio particular	Subtipo B
WebPSSM sinsi		Subtipo B
WebPSSM sinsiC		Subtipo C
Genotypic rule (Raymond et al.)	Regla 11/25 en combinación con una regla de carga neta	Subtipo C
Genotypic rule (Esbjörnsson et al.)	Reglas basadas en Raymond et al. con puntos de corte modificados de la carga neta media y recuento total de aminoácidos cargados	Subtipo A

Adaptado de Riemenschneider, et al. Genotypic prediction of co-receptor tropism of HIV-1 subtypes A and C. *Sci Rep* 2016;6:24883.

ción de 32 pares de bases para el receptor CCR5, con el fin de mejorar las predicciones. La principal ventaja de este método es que se muestra en constante evolución y se realizan actualizaciones periódicas en las bases de datos. Además, los estudios que comparan 3 métodos genotípicos para evaluar el tropismo de VIH-1 concluyen que el algoritmo G2P-TFP5 % (<https://coreceptor.geno2pheno.org/>) podría facilitar la predicción del tropismo en la práctica clínica (54). A pesar de la excelente concordancia de G2G[coreceptor] con las PFT para subtipo B y algunos otros subtipos se ha descrito que podría sobreestimar el tropismo X4 en aislados de Asia CRF01\_AE. La nueva versión de G2P, denominada G2P[Sanger] (punto de corte: riesgo X4 < 36 %) presenta una elevada concordancia con las PFT en dichas cepas (55).

MVC es una potencial promesa para tratar en áreas no-subtipo B (principalmente países con bajos-medios ingresos). Por tanto, el uso óptimo de PGT con elevada previsibilidad en los subtipos no-B es requerido para tratar a estos pacientes con dicho fármaco (52). Para algunos aislados, las PFT revelan resultados discordantes con las PGT. Varios estudios actuales realizados en países donde el subtipo VIH-1C es el dominante, indican un incremento en la predicción de aislados con tropismo X4 a lo largo del tiempo (54,56). Los aislados VIH-1 procedentes del África del Este poseen una diversidad significativamente mayor en comparación con otros aislados VIH-1 de otras localizaciones geográficas como la India o Sudáfrica (57). En un reciente es-

tudio (52) se llevó a cabo la comparación entre ambas pruebas para aislados VIH-1C procedentes de África del Este, concluyendo que las PGT actuales sobreestiman el tropismo X4 en dichos aislados y que, a pesar de la ausencia de cambios en las envueltas V3, algunos aislados presentan tropismo dual. La mayor heterogeneidad en la envuelta V3 es común en estos aislados VIH-1C y puede falsamente limitar el uso de MVC. Otros autores indican que no solo las mutaciones en V3 sino también en regiones de gp120 y gp41 podían ser principalmente responsables de la variabilidad a MVC (40,58). Además, esta diferencia en la sensibilidad en VIH-1C parece específica de aislado (59). Estos datos se apoyan en un estudio en el que la inclusión de la secuencia completa gp120 mejora la predicción genotípica para virus VIH-1A y C (49). En cualquier caso, todos estos trabajos enfatizan la necesidad de mejorar los algoritmos actuales para las PGT, por ejemplo incluyendo segmentos más grandes de gp120 en la predicción del tropismo (52).

Al igual que para la determinación de resistencias, las nuevas plataformas de secuenciación masiva permiten superar las limitaciones de las técnicas convencionales de secuenciación poblacional, mediante la generación simultánea de centenares de secuencias clonales de virus. Sin embargo, hasta que estas plataformas simplifiquen su logística y la interpretación bioinformática de resultados, los métodos genotípicos representan actualmente la principal alternativa rápida, fiable y factible para la determinación del tropis-

mo viral en la práctica clínica. Un avance basado en la tecnología de secuenciación de próxima generación y, además, de acceso gratuito *on line*, es un sistema de interpretación genotípica denominado G2P [ngs-freq] (<http://ngs.geno2pheno.org>) que permite identificar mutaciones de resistencia en poblaciones minoritarias del VIH-1 (60).

## CONSIDERACIONES FINALES

El VIH-1 pandémico actual está filogenéticamente dividido en 4 grupos diferentes (M, N, O y P. Solo el VIH-1 grupo M se ha diseminado a lo largo de África y al resto de continentes, siendo el subtipo B la variante más diseminada representando aproximadamente un 11 % de las infecciones a nivel mundial. Dentro de determinados subtipos, la elevada variabilidad genética ha derivado en la clasificación de sub-subtipos, en constante actualización (el subtipo A ha sido subdividido en A1, A2, A3, A4, A5, A6 y el más reciente descubierto el A7; el subtipo D en D1, D2, D3 y el F en F1 y F2). Treinta y nueve años después desde los primeros casos detectados, todavía existe una clara asociación entre contacto homosexual e infección por subtipo B en la mayoría de la subepidemias en todo el mundo. En Europa, el último informe anual (2019) refleja que los porcentajes globales de infección por VIH en población homosexual (HSH) y heterosexual se van acercando (39,8 % vs. 32,5 %, respectivamente). La diversidad viral y las coinfecciones pueden confundir el diagnóstico y tratamiento si no son diagnosticadas. Los métodos genotípicos son de elección tanto en la determinación de resistencias como de tropismo viral. Estos métodos tienen en general más valor para detectar resistencia que para predecir sensibilidad (ausencia de toda posible resistencia). La determinación del tropismo del VIH-1 para el tratamiento con MVC es diferente en función del algoritmo utilizado. Actualmente, las herramientas más empleadas son WebPSSM y G2P siendo el algoritmo G2P-TFP5 % el que podría facilitar la predicción fiable del tropismo en la práctica clínica en todos los subtipos. No obstante, se requiere una optimización de las pruebas genotípicas del tropismo en pacientes con elevada previsibilidad de subtipos no-B. Asimismo, la elevada prevalencia de tropismo X4 para CRF01\_AE recombinante se ha asociado con una posible rápida progresión de la enfermedad. La emergente y dinámica diversidad genética del VIH-1 precisa de constante monitorización para alcanzar un correcto diagnóstico, tratamiento así como avances en el desarrollo de vacunas. Las técnicas de secuenciación masiva de última generación, una vez solventadas las limitaciones, serán las más sensibles en la detección de mutaciones en las variantes genéticas minoritarias del VIH-1. En este sentido la nueva herramienta bioinformática G2P [ngs-freq] contribuye a tomar decisiones clínicas e investigar el impacto de las mutaciones de resistencia de baja prevalencia.

## BIBLIOGRAFÍA

1. OMS. VIH/SIDA. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> [Consultado 23 de marzo de 2020]
2. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet Infect Dis* 2011;11:45-56.
3. Beyrer N, Davis C, Jenkins A, et al. The increase in global HIV epidemics in MSM. *AIDS* 2013;27:2665-78.
4. Brenner BG, Wainberg M. Future of phylogeny in HIV prevention. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013;63(Suppl. 2):S248-54.
5. Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends Mol Med* 2012;18:182-92.
6. Désiré N, Cerutti L, Le Hingrant Q, et al. Characterization update of HIV-1 M subtypes diversity and proposal for subtypes A and D sub-subtypes reclassification. *Retrovirology* 2018;15:80.
7. Bbossa N, Kaleebu P, Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr Opin HIV AIDS* 2019, 14:153-60.
8. Aldrich C, Hemelaar J. Global HIV-1 diversity surveillance. *Trends Mol Med* 2012;18:691-4.
9. Compton AA, Malik HS, Emerman M. Host gene evolution traces the evolutionary history of ancient primate lentiviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013;368:20120496.
10. Vallari A, Holzmayer V, Harris B, et al. Confirmation of putative HIV-1 group P in Cameroon. *J Virol* 2010;85:1403-7.
11. Vidal N, Peeters M, Mulanga-Kabeya C, et al. Unprecedented degree of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) group M genetic diversity in the Democratic Republic of Congo suggests that the HIV-1 pandemic originated in Central Africa. *J Virol* 2000;74:10498-507.
12. Berry N, Davis C, Jenkins A, et al. Phylogeny and the origin of HIV-1. *Nature* 2001;410:1047-8.
13. Delaugerre C, De Oliveira F, Lascoux-Combe C, et al. HIV-1 group N: travelling beyond Cameroon. *Lancet* 2011;378:1894.
14. Abongwa LE, Nyamache AK, Torimiro JN, et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) subtypes in the northwest region, Cameroon. *Virology Journal* 2019;16:103.
15. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, et al. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS* 2006;20:W13-23.
16. Lihana RW, Ssemwanga D, Abimiku A, et al. Update on HIV-1 diversity in Africa: a decade in review. *AIDS Rev* 2012;14:83-100.
17. Taylor BS, Hammer SM, Mccutchan FE. The challenge of HIV-1 subtype diversity. *N Engl J Med* 2008;359:1965-6.
18. Renjifo B, Gilbert P, Chaplin B, et al. Preferential in-utero transmission of HIV-1 subtype C as compared to HIV-1 subtype A or D. *AIDS* 2004;18:1629-36.
19. Casseb J, Komninakis S, Abdalla L, et al. HIV disease progression: is the Brazilian variant subtype B' (GWFR motif) less pathogenic than US/European subtype B (GPGR)? *Int J Infect Dis* 2002;6:164-9.
20. Kaleebu P, French N, Mahe C, et al. Effect of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 envelope subtypes A and D on disease progression in a large cohort of HIV-1-positive persons in Uganda. *J Infect Dis* 2002;185:1244-50.
21. Baeten JM, Chohan B, Lavreys L, et al. HIV-1 subtype D infection is associated with faster disease progression than subtype A in spite of similar plasma HIV-1 loads. *J Infect Dis* 2007;195:1177-80.
22. Camacho RJ, Vandamme A-M. Antiretroviral resistance in different HIV-1 subtypes: impact on therapy outcomes and resistance testing interpretation. *Curr Opin HIV AIDS* 2007;2:123-9.
23. Abecasis AB, Wensing AMJ, Paraskevis D, et al. HIV-1 subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology* 2013;10:7.
24. Junqueira DM, de Matos Almeida SE. HIV-1 subtype B: Traces of a pandemic. *Virology* 2016;495:173-84.

25. Santos AFA, Lengrubner RB, Soares EA, et al. Conservation patterns of HIV-1 RT connection and RNase H domains: identification of new mutations in NRTI-treated patients. *PLoS One* 2008;3:e1781.
26. Pinto ME, Schrago CG, Miranda AB, et al. A molecular study on the evolution of a subtype B variant frequently found in Brazil. *Genet Mol Res* 2008;7:1031-44.
27. Ou CY, Takebe Y, Weniger BG, et al. Independent introduction of two major HIV-1 genotypes into distinct high-risk populations in Thailand. *Lancet* 1993;341:1171-4.
28. Cleghorn FR, Jack N, Carr JK. A distinctive clade B HIV type 1 is heterosexually transmitted in Trinidad and Tobago. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:10532-7.
29. Kim EY, Cho YS, Maeng SH, et al. Characterization of V3 loop sequences from HIV type 1 subtype B in South Korea: predominance of the GPGS motif. *AIDS Res Hum Retrovir* 1999;15:681-6.
30. Rodgers MA, Vallari AS, Harris B, et al. Identification of rare HIV-1 Group N, HBV AE, and HTLV-3 strains in rural South Cameroon. *Virology* 2017;504:141-51.
31. Lau KA, Wong JLL. Current trends of HIV recombination worldwide. *Infect Dis Rep* 2013;5:e4.
32. Von Wyl V, Kouyos RD, Yerly S, et al. The role of migration and domestic transmission in the spread of HIV-1 non-B subtypes in Switzerland. *J Infect Dis* 2011;204:1095-103.
33. Anne-Geneviève M, Santoro M, Charpentier C, et al. Epidemiological study of Doravirine associated resistance mutations in HIV-1 infected treatment-naïve patients from two large databases in France and Italy. 15th EU Meeting on HIV & Hepatitis 2017.
34. Li Y, Han Y, Xie J, et al. CRF01\_AE subtype is associated with X4 tropism and fast HIV progression in Chinese patients infected through sexual transmission. *AIDS Lond Engl* 2014;28:521-30.
35. Liebert MA, Casado C, Urtasun I, et al. Different distribution of HIV type 1 genetic variants in European patients with distinct risk practices. *AIDS Res Hum Retrovir* 2000;16:299-304.
36. European Centre for Disease Prevention and Control/WHO Regional Office for Europe. HIV/AIDS surveillance in Europe 2019 – 2018 data. Stockholm: ECDC; 2019.
37. Delgado E, Benito S, Montero V, et al. Diverse large HIV-1 non-subtype B clusters are spreading among men who have sex with men in Spain. *Front Microbiol* 2019;10:655.
38. Perelson AD, Neumann AU, Markowitz M, et al. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996;271:1582-6.
39. GESIDA. Documento de consenso de GeSIDA/Plan Nacional sobre el SIDA respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el VIH. Actualización enero 2019.
40. Jiang X, Feyertag F, Meehan CJ, et al. Characterizing the diverse mutational pathways associated with R5-Tropic Maraviroc resistance: HIV-1 that uses the drug-bound CCR5 Coreceptor. *J Virol* 2015;89:11457-72.
41. infoSIDA. Departamento de Salud y Servicios Humanos EEUU. Disponible en: <https://infosida.nih.gov/drugs/511/ibalizumab-uyk/0/patient>
42. García F, Álvarez M, Bernal C, et al. Diagnóstico de laboratorio de la infección por el VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los antirretrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011;29(4):297-307.
43. Aguilera A, Álvarez M, García F, et al. Diagnóstico microbiológico de la infección por el VIH. 6a. Procedimientos en Microbiología Clínica. SEIMC 2014.
44. Briggs DR, Tuttle DL, Sleasman JW, et al. Envelope V3 amino acid sequence predicts HIV-1 phenotype (co-receptor usage and tropism for macrophages). *AIDS Lond Engl* 2000;14:2937-9.
45. Mörner A, Björndal A, Albert Jan, et al. Primary Human Immunodeficiency Virus type 2 (HIV-2) isolates, like HIV-1 isolates, frequently use CCR5 but show promiscuity in coreceptor usage. *J Virol* 1999;73:2343-9.
46. Edwards S, Stucki H, Bader J, et al. A diagnostic HIV-1 tropism system based on sequence relatedness. *J Clin Microbiol* 2015;53:597-610.
47. Raymond S, Delobel P, Rogez S, et al. Genotypic prediction of HIV-1 CRF01\_AE tropism. *J Clin Microbiol* 2013;51:564-70.
48. Low AJ, Swenson LC, Harrigan PR. HIV coreceptor phenotyping in the clinical setting. *AIDS Rev* 2008;10:143-51.
49. Riemenschneider M, Cashin KY, Budeus B, et al. Genotypic prediction of co-receptor tropism of HIV-1 subtypes A and C. *Sci Rep* 2016;6:24883.
50. Sánchez V, Robledano C, Lumberras B, et al. A highly sensitive and specific model for predicting HIV-1 tropism in treatment experienced patients combining V3 loop sequences interpretation and clinical parameters. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections 2010 (Abstract 543).
51. Lengauer T, Sander O, Sierra S, et al. Bioinformatics prediction of HIV coreceptor usage. *Nat Biotechnol* 2007;25:1407-10.
52. Siddik AB, Haas A, Rahman MS, et al. Phenotypic co-receptor tropism and Maraviroc sensitivity in HIV-1 subtype C from East Africa. *Sci Rep* 2018;8:2363.
53. Cashin K, Gray LR, Harvey KL, et al. Reliable genotypic tropism tests for the major HIV-1 subtypes. *Sci Rep* 2015;5:8543.
54. Gupta S, Neogi U, Srinivasa H, et al. HIV-1 coreceptor tropism in India: increasing proportion of X4-tropism in subtype C strains-over two decades. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2014;65:397-404.
55. Matsuda M, Louvel S, Sugiura W, et al. Performance evaluation of a genotypic tropism test using HIV-1 CRF01\_AE isolates in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2018;71(4):264-6.
56. Kalu AW, Telele NF, Gebreselasie S, et al. Monophylogenetic HIV-1C epidemic in Ethiopia is dominated by CCR5-tropic viruses-an analysis of a prospective country-wide cohort. *BMC Infect Dis* 2017;17:37.
57. Amogne W, Bontell I, Grossman S, et al. Phylogenetic Analysis of Ethiopian HIV-1 subtype C near full-length genomes reveals high intrasubtype diversity and a strong geographical cluster. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2016;32:471-4.
58. Garcia-Perez J, Staropoli I, Azoulay S, et al. A single-residue change in the HIV-1 V3 loop associated with maraviroc resistance impairs CCR5 binding affinity while increasing replicative capacity. *Retrovirology* 2015;12:50.
59. Wensing AM, Calvez V, Günthard HF, et al. 2014 Update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Top Antivir Med* 2014;22:642-50.
60. Döring M, Büch J, Friedrich G, et al. geno2pheno[ngs-freq]: a genotypic interpretation system for identifying viral drug resistance using next-generation sequencing data. *Nucleic Acids Research* 2018;46:271-7.



## Artículo Especial

# Consejos para revisores de la *Revista de Medicina de Laboratorio*

## *Tips for reviewers of Revista de Medicina de Laboratorio*

*Enrique Rodríguez Borja, Vicente Morales Elipe, María del Rosario Caro Narros y Fernando Bandrés Moya*

Directores de la *Revista de Medicina de Laboratorio*

**Recibido:** 14/05/2020  
**Aceptado:** 14/05/2020

**Correspondencia:** Enrique Rodríguez Borja. Hospital Clínic Universitari de València. Av. de Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia  
e-mail: enrobor@gmail.com

El Comité Editorial de la *Revista de Medicina de Laboratorio* confía en el sistema de revisión ciego por pares o *peer review* como criterio de aceptación de los artículos originales que recibe. Todos los manuscritos que recibimos son evaluados de manera anónima, mediante un proceso de revisión externa por un mínimo de dos revisores seleccionados por el propio Comité.

Si bien la revisión por pares es el sistema más ampliamente empleado a la hora de evaluar los manuscritos científicos previos a la publicación por cualquier revista especializada de primer orden (1), la evidencia de su eficacia es limitada y ha sido una estrategia criticada y puesta en entredicho por su potencial sesgo, su inconsistencia y sus tiempos de respuesta demasiado largos, entre otros factores.

Todas estas críticas a la objetividad y finalidad de este modelo no significan que debamos abandonarlo, sino más bien mejorarlo y potenciarlo. Más si cabe ante las actuales amenazas que se ciernen sobre toda actividad científica y su difusión. Por un lado, eminentes científicos sostienen que los hallazgos de investigación más publicados en la literatura son falsos (2). Las causas que apoyan esta afirmación son diversas y así, a medida que los estudios sobre áreas concretas

son más reducidos, cuando la dimensión de los efectos es pequeña, cuando hay demasiada flexibilidad en los diseños, definiciones, métodos y resultados de análisis y/o cuando existe un marcado interés (financiero o de otro tipo), es mucho menos probable que un hallazgo de investigación sea cierto.

Por otro lado, otra de las presentes amenazas la constituye la creciente existencia de revistas "predadoras" o *predatory journals*, sobre todo en el contexto de publicaciones *open access* (aquellas de acceso libre sin cargo y sin fines comerciales aparentes). Estas revistas orquestan agresivas campañas a diferentes científicos en busca del envío masivo de originales, aceptándolos sin ningún tipo de sistema de revisión ni control para luego exigir un pago por su publicación a los autores. Ni que decir tiene que esta actitud dista mucho de ser profesional y mucho menos ética (3).

Por si esto no fuera suficiente para desechar la idea de abandonar la revisión por pares, no debemos olvidar que recientemente hemos vivido como un buen número de empresas *start-up*, caracterizadas por su mentalidad innovadora y disruptiva dentro del mercado biosanitario, no han sometido a la pertinente revisión clásica por pares muchos de sus recientes

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00027

Rodríguez Borja E, Morales Elipe V, Caro Narros MR y Bandrés Moya F. Rev Med Lab 2020;1(1):21-24

descubrimientos en lo que se conoce como un fenómeno de investigación furtiva o *stealth research* (4). El resultado, en la mayoría de ocasiones, ha demostrado como muchos de estos revolucionarios hallazgos o bien tenían un desempeño muy inferior al reportado o sencillamente incurrían en un flagrante fraude, como pasó con la empresa americana Theranos (5).

El objetivo de este documento interno es ayudar a los revisores en su trabajo voluntario (a la par que gratificante) y que de esta manera sus evaluaciones sean lo más justas y objetivas posible. Solo así las publicaciones científicas se beneficiarán de artículos relevantes que han sido revisados lo más sistemáticamente posible y por otra parte los lectores tendrán la garantía de que su revista guarda unos altos estándares de calidad. A fin de cuentas, lo que buscamos con esta pequeña "guía para revisores" es tratar de aplicar *cierto método* la hora de leer y revisar los manuscritos que recibimos.

Y es que como afirmaba Polonio en el acto II de Hamlet: "*Aunque todo es locura, no deja de observar método en lo que dice*" (6).

A continuación, indicamos una serie de consejos para todos aquellos que realizan tareas de revisión en revistas científicas:

## QUÉ DEBERÍA HACER UN REVISOR CUANDO RECIBE UNA INVITACIÓN PARA REVISAR UN MANUSCRITO

- Debería leer el *abstract* o resumen del manuscrito que se incluye en la invitación con el fin de evaluar en primera instancia si pertenece a su ámbito de competencia y si considera que tiene un nivel de conocimiento suficiente como para poder revisarlo. Debería aceptar o rechazar la invitación cuanto antes en función de estas directrices.
- Debería cumplir las fechas de entrega tanto de aceptación/rechazo de la invitación como del envío de la revisión. Si necesita extraordinariamente una extensión de este tiempo, debería solicitarlo a los editores.
- Si considera que puede tener un conflicto de intereses en cualquier momento de la revisión debería comunicárselo a los editores cuanto antes.
- Debe mantener todos los materiales provistos en estricta confidencialidad. Un manuscrito científico es un documento original y no debe ser comparado con terceras personas sin el permiso expreso del equipo editorial.

## CÓMO DEBERÍA ESCRIBIRSE UNA REVISIÓN

- Evalúe el manuscrito de manera objetiva e imparcial.
- Exponga, de manera sencilla, si el manuscrito debe ser aceptado, aceptado con modificaciones menores, aceptado con modificaciones mayores o rechazado.

- Revise la lista que le adjuntamos a continuación (*Lista Para Revisores*) (7,8) y si considera que debe comentar algo en alguno de sus puntos, hágalo. El objetivo de esta lista es prevenir que se omita el revisar aspectos esenciales.
- Resuma todos aquellos puntos fuertes del estudio que cree que pueden ser beneficiosos para la *revista*.
- A la hora de introducir un comentario crítico se claro, conciso y educado. Si quieres citar una fase del autor, indique el número de página y la línea de texto acorde al manuscrito remitido. Queda totalmente prohibido dirigirse al autor personalmente, realizar comentarios sarcásticos o que puedan ser ofensivos.
- Procure que todas aquellas "críticas" al autor contengan no solo una explicación razonada, sino también consejos para su corrección. Si puede ayudarle con bibliografía asociada, no dude en citar aquellas referencias que crea conveniente. No se trata de reprender al autor, sino de guiarle. Haga todo lo posible para que su revisión sea educativa. El autor debe aprender de sus errores e intentar mejorar el manuscrito.

## QUÉ DEBERÍA HACER TRAS ENVIAR SU REVISIÓN

- Destruir todas aquellas copias del manuscrito para mantener la confidencialidad.
- Conservará todo el material adicional que haya podido emplear durante el proceso de revisión hasta que se publique el manuscrito.

## LISTA PARA REVISORES

### Título

1. Asegúrese de que el título sea claro e informativo. Que no sea demasiado largo y que tenga relación con el contenido del artículo. Que sea atractivo y llame a la lectura.
2. Hay que evitar expresiones como "*Un estudio de*", "*Desarrollo de*", "*La investigación de*" así como adjetivos del tipo "*Nuevo*", "*Mejorado*", "*Validado*", "*Sensibles*". Se sobreentienden.
3. En el título solo tienen cabida aquellas abreviaturas muy generales y comúnmente aceptadas. Por ej. VIH, ADN, ELISA...
4. Queda desaconsejado por completo el uso de la expresión "*A propósito de un caso*" a la hora de presentar un caso clínico.

### Palabras clave

1. Compruebe que las palabras clave son descriptores MeSH (Medical Subject Headings) recogidos por [www.pubmed.gov](http://www.pubmed.gov) y que son apropiados y fieles al contenido del manuscrito.

## Abstract o resumen

1. El resumen debería responder secuencialmente a las siguientes preguntas:
  - a. El *porqué* del estudio.
  - b. *Qué* es lo que se ha hecho.
  - c. *Cómo* se ha hecho.
  - d. *Qué resultados* se han obtenido.
  - e. *Qué impacto* tiene o puede tener el estudio.
2. Compruebe que el resumen esté estructurado siguiendo el orden clásico de Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión, Conclusión.
3. En el resumen debe identificarse claramente el objetivo y/o la hipótesis del trabajo en la primera mitad del mismo.
4. El resumen debe describir someramente el diseño del estudio, así como una breve descripción de los grupos y/o pacientes implicados.
5. Los resultados incluidos en el resumen deben ser los de mayor relevancia y en el caso de que lo requieran, vendrán acompañados de su grado de significación estadística.
6. La conclusión del resumen debe basarse en los resultados del estudio (y solo en ellos) y no diferir con respecto a la conclusión del manuscrito. No deben admitirse conclusiones no justificadas por los resultados.

## Introducción

1. Las introducciones suelen ser demasiado largas en la mayoría de manuscritos, tal vez por ausencia de una sistemática. La estructura en este apartado debería tener una forma que se conoce como “cónica”, empezando desde un punto de vista general hacia un aspecto concreto, o “del contexto al argumento”. Un ejemplo sería el que sigue:
  - a. Descripción general de los antecedentes. *Lo que se sabe*.
  - b. Puntualización de la “laguna” de conocimiento que justifica la existencia del estudio. *Lo que no se sabe*.
  - c. Desarrollo de la hipótesis o pregunta del estudio. *El objetivo del estudio*.
  - d. *Solución propuesta* o plan de ataque propuesto por autor.
2. Asegúrese de que en el relato del contexto, el autor emplea bibliografía o referencias recientes y/o relevantes.
3. Compruebe que la hipótesis esté bien elaborada, sea novedosa y resuelva un aspecto no conocido del contexto.

## Material y métodos

1. Esta sección es *la más importante del manuscrito*. El autor debe responder al qué, quién, cómo, cuándo, dónde y porqué. Su extensión debe ser la apropiada según el estudio. No hay límites.

2. Esta sección puede estar estructurada y así contener subapartados del tipo *Diseño del estudio, Sujetos del estudio, Métodos, Análisis estadístico...*
3. Los autores deben reflejar el tipo de estudio que han realizado: observacional, prospectivo, retrospectivo, de exactitud diagnóstica, de validación analítica, etc.
4. La descripción de los grupos/pacientes del estudio debe estar clara, así como los criterios de inclusión/exclusión para cada cohorte y el método de reclutamiento.
5. Aspectos importantes que deben citarse en esta sección:
  - a. Si los participantes del estudio firmaron un consentimiento informado.
  - b. Si el estudio fue aprobado por el comité ético de la institución de una institución sanitaria.
6. Con referencia a las muestras biológicas, debe quedar claro cómo se recogieron (por ej. ayunas), conservaron (tipos de tubo, aditivos, volumen) y analizaron (inmediatamente/con posterioridad).
7. Con respecto a los métodos, todas las pruebas realizadas deben estar contempladas y bien descritas: información del fabricante, equipo empleado, coeficientes de variación para métodos no estandarizados, si ha sido necesario realizar controles de calidad, etc.
8. En el análisis estadístico los autores deben de verificar la normalidad para las pruebas realizadas, enumerar las pruebas de contraste de hipótesis empleadas (si se han usado) y describir su idoneidad, así como aportar el nivel de significación estadística en los diferentes contrastes. Se deberá reseñar el nombre, versión y fabricante del programa estadístico empleado en los cálculos.

## Resultados

1. Los resultados cuantitativos deben ser expresados apropiadamente a su distribución:
  - a. Media y desviación estándar para distribuciones normales.
  - b. Mediana y rango intercuartílico para distribuciones no normales.
2. Las pruebas de contraste de hipótesis empleadas deben ser las mismas que se han detallado en la sección de “Material y métodos” y todas ellas deben ofrecer un valor de significación estadística.
3. En estudios observacionales sin intervención alguna, se debe evitar el uso de términos como “causa” o “efecto” y sustituirlo por “asociación”. Recuerde que *“correlación no implica causalidad”*.
4. No se empleará el término “significativo/a” si no se ha realizado un contraste de hipótesis.
5. La existencia de valores ausentes en alguna cohorte debe estar justificada o al menos explicada.
6. Las tablas y figuras deben ser informativas, claras y sencillas. Deben entenderse por sí mismas, sin necesidad de volver al texto.

## Discusión

1. Muchas discusiones adolecen de una estructura lógica. A la inversa de lo descrito en la "Introducción"; las discusiones deberían tener una forma "cónica" inversa, empezando desde el aspecto concreto (los resultados del estudio) hacia un punto de vista general, o "del argumento al contexto".
2. Toda discusión debería comenzar en su primer párrafo enumerando los hallazgos más importantes del estudio.
3. Los autores deben comentar sus resultados (sin volver a repetirlos) y dictaminar si apoyan o rechazan su hipótesis previa. Adicionalmente, deben discutir otros estudios existentes en la literatura y como se relacionan con sus descubrimientos.
4. Si existen limitaciones al estudio, el autor debe citarlas en esta parte.
5. En la última parte de la discusión debe resaltarse la contribución del trabajo al campo de estudio en general o como estos hallazgos podrán ser aplicados en estudios existentes o futuros.
6. Las conclusiones deben ceñirse a los resultados del estudio y no extrapolarse más allá. Deben coincidir con las conclusiones realizadas en el *abstract* o resumen.

## Bibliografía

1. Las referencias deben estar actualizadas, guardar el formato de la revista y estar correctamente numeradas de manera consecutiva.

Un último mensaje para todos nuestros revisores, presentes y futuros. Aunque a veces puedan pensar que no tienen mucha experiencia revisando artículos,

que no se es muy bueno criticando el trabajo de otros o que el sistema de revisión por pares solo beneficia al autor, tengan en cuenta estos tres apuntes: a) es la actitud y no el tiempo lo que produce experiencia; b) más allá de la crítica, lo que se busca es el comentario constructivo que mejore el trabajo del autor; y c) ser revisor nos ayuda a ser mejores científicos y por tanto mejores profesionales. Y recuerden que su papel aunque discreto, es clave a la hora de contribuir en la calidad, el valor y la reputación de la ciencia (9).

Gracias por su labor en nombre del equipo editorial, de los autores y de todos los lectores de Revista de Medicina de Laboratorio.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Burnham JC. The evolution of editorial peer review. *JAMA* 1990;263:1323-9.
2. Ioannidis JP. Why most published research findings are false. *PLoS Med* 2005;2(8):e124.
3. Bohannon J. Who's afraid of peer review? *Science* 2013;342:60-5.
4. Cristea IA, Cahan EM, Ioannidis JPA. Stealth research: Lack of peer-reviewed evidence from healthcare unicorns. *Eur J Clin Invest* 2019;49(4):e13072.
5. Kidd BA, Hoffman G, Zimmerman N, et al. Evaluation of direct-to-consumer low-volume lab tests in healthy adults. *J Clin Investig* 2016;126:1734-44.
6. Shakespeare, William. *Hamlet: Tragedia de Guillermo Shakespeare; traducida e ilustrada con la vida del autor y notas críticas por Inarco Celenio [L. Fernández de Moratín], Alicante: Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes; 2000.*
7. Annesley TM. Now you be the judge. *Clin Chem* 2012;58(11):1520-6.
8. Smolčić VŠ, Simundić AM. Peer-review policy and guidelines for *Biochemia Medica Journal*. *Biochem Med (Zagreb)* 2014;24(3):321-8.
9. Annesley TM. Seven Reasons Not to Be a Peer Reviewer—And Why These Reasons Are Wrong. *Clin Chem* 2012;58(4):677-9.



## Caso Clínico

# Recién nacido con debut de ictericia neonatal no isoimmune. Síndrome de Crigler-Najjar

## *Newborn with debut of non-isoimmune neonatal ictericia. Crigler-Najjar syndrome*

María José Ruiz Márquez<sup>1</sup>, Rocío Cabra Rodríguez<sup>2</sup> y Gema María Varo Sánchez<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Comarcal de Riotinto. Minas de Riotinto, Huelva. <sup>2</sup>Análisis Clínicos. Medicina de Familia y Comunitaria. Centro de Salud El Cachorro. Distrito Sanitario de Sevilla. Sevilla

**Recibido:** 12/03/2020  
**Aceptado:** 23/03/2020

**Correspondencia:** María José Ruiz Márquez. Análisis Clínicos. Hospital Comarcal de Riotinto. Avda. de la Esquila, 5. 21660 Minas de Riotinto, Huelva  
e-mail: ruizmarquezmj@gmail.com

## CASO CLÍNICO

Varón recién nacido a término que presenta a los 10 días de vida estreñimiento, irritabilidad e ictericia intensa, con cifras de bilirrubina en rango de exanguinotransfusión y sin datos de hemólisis (bilirrubina total: 26 mg/dl, bilirrubina indirecta: 24,2 mg/dl).

Es el primer hijo de padres sanos no consanguíneos. Nacido tras embarazo controlado y parto eutócico, recibe lactancia materna exclusiva con buena tolerancia. A las 48 horas de vida había presentado ictericia, con cifras de bilirrubina total de 18,5 mg/dl, que respondió adecuadamente al tratamiento con fototerapia. Como antecedentes familiares, su padre y dos tíos maternos presentaron ictericia leve en el periodo neonatal.

En la exploración física no se evidencia hepatomegalia ni signos de afectación neurológica, y la ecografía abdominal y cerebral transfoneteral no muestran alteraciones significativas.

El estudio inmunohematológico descartó el origen isoimmune de la ictericia. La determinación de ácido láctico, amonio, ionograma y parámetros de función hepá-

tica resultaron dentro del intervalo de referencia, y no se detectaron sustancias reductoras en orina. El cribado inicial de metabolopatías en sangre de talón fue negativo.

Se realizó exanguinotransfusión y tratamiento con fototerapia continua y fenobarbital oral, con descenso de las cifras de bilirrubina total hasta valores cercanos a 11 mg/dl.

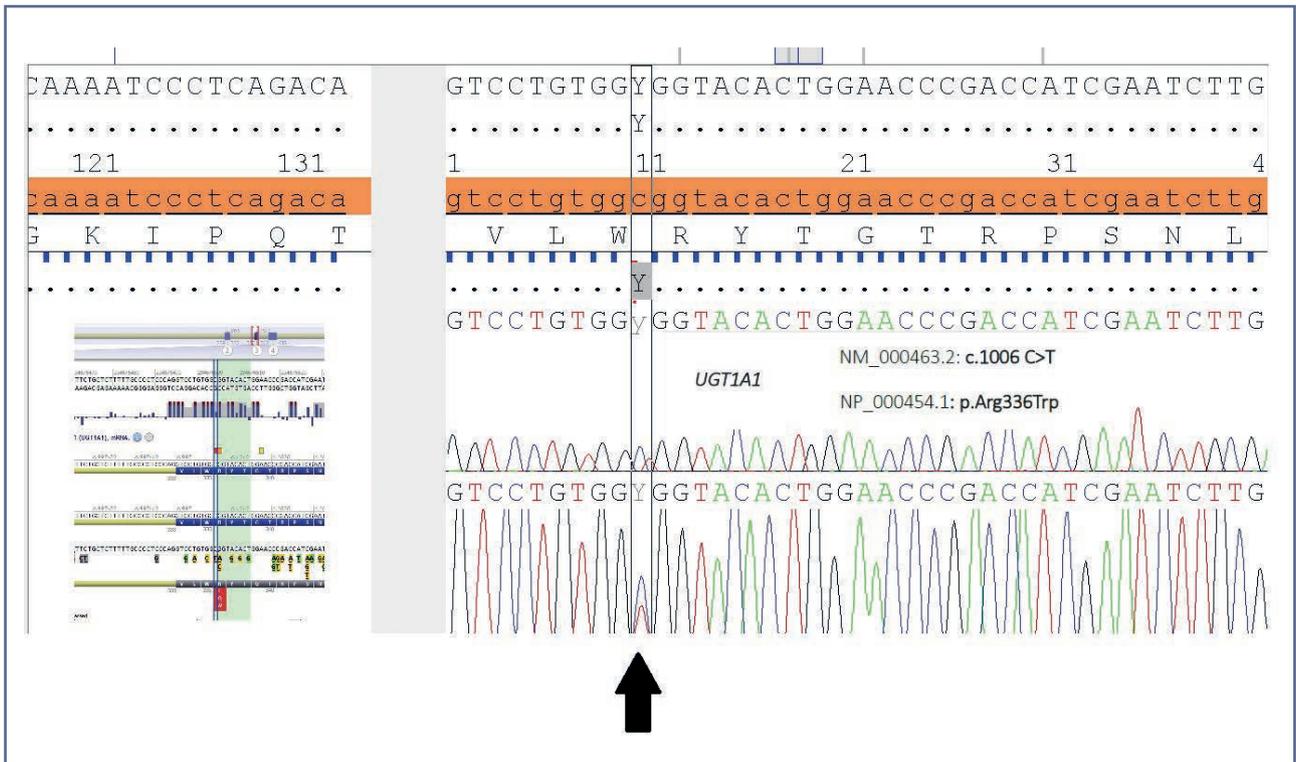
Ante la sospecha clínica de síndrome de Crigler-Najjar se solicitó al laboratorio de referencia el estudio del gen UGT1A1 (bilirrubina uridina glucuronosiltransferasa), previo consentimiento informado de los padres.

El estudio genético se realizó mediante secuenciación Sanger, con amplificación de la región de interés incluyendo las zonas flanqueantes intrónicas. Posteriormente se procesó la muestra en el secuenciador automático ABI3130 (Applied Biosystems). El análisis de la secuencia obtenido con el programa informático software GeneMapper 4.0 detectó dos variantes en heterocigosis compuesta respecto al genoma de referencia (GRCh37/hg19): Nm\_000463.2: c.1006 C > T. NP\_000454.1: p.Arg336Trp y NM\_000463.2: c.161 G > T. NP\_000454.1: p.Gly54Val (Figs. 1 y 2).

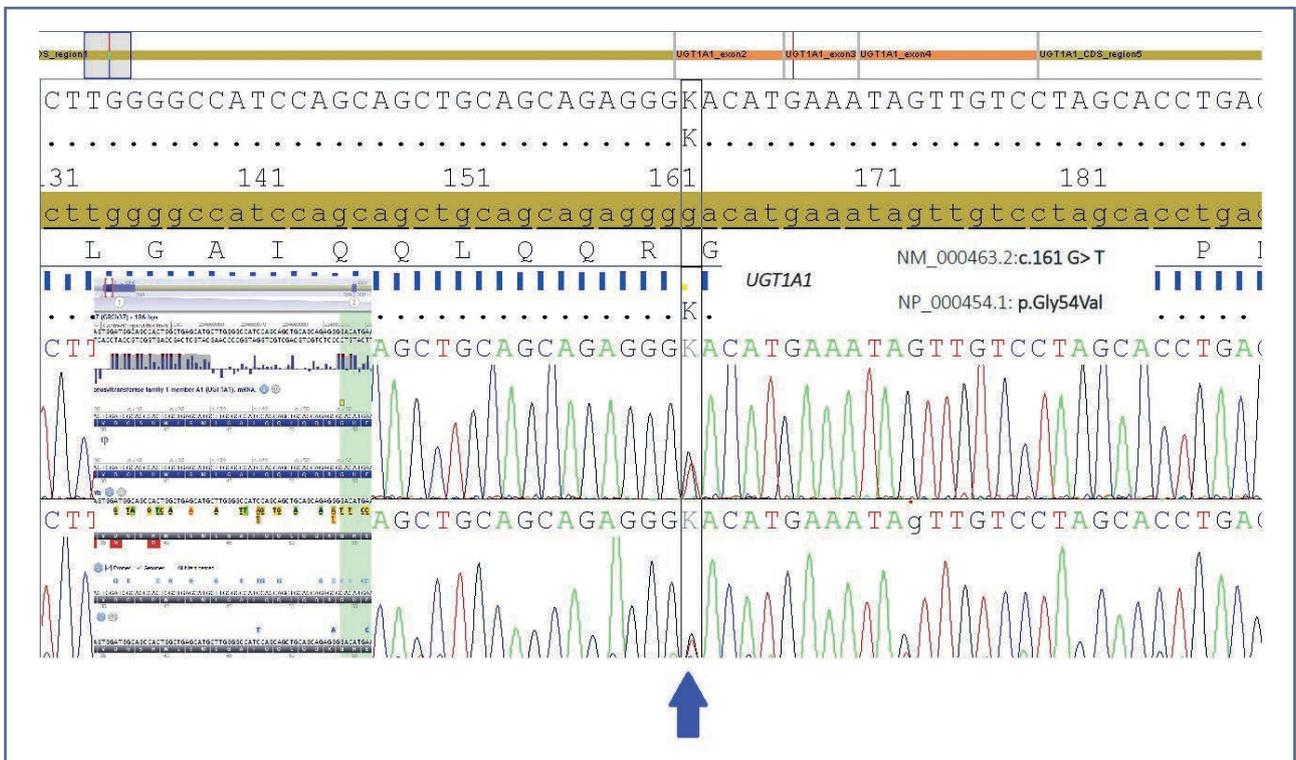
*Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.*

DOI: 10.20960/revmedlab.0009

Ruiz Márquez MJ, Cabra Rodríguez R, Varo Sánchez GM. Recién nacido con debut de ictericia neonatal no isoimmune. Síndrome de Crigler-Najjar. Rev Med Lab 2020;1(1):25-28



**Figura 1** – Electroferograma de la variante identificada y descrita como patológica en el gen bilirrubina uridina glucuronosil transferasa (UGT1A1) en el paciente Nm\_000463.2: c.1006 C > T. NP\_000454.1: p.Arg336Trp (flecha negra). En color naranja se muestra la secuencia de referencia.



**Figura 2** – Electroferograma de la nueva variante identificada, clasificada como probablemente patológica NM\_000463.2: c.161 G>T. NP\_000454.1: p.Gly54Val (flecha azul) en heterocigosis compuesta con p.Arg336Trp. No descrita en paciente con Síndrome de Criger-Najjar tipo 2. En color amarillo se muestra la secuencia de referencia.

La variante c.1006 C > T (p.Arg336Trp) provoca un cambio de tipo missense que altera la pauta de lectura, y ha sido descrita y clasificada como patogénica en pacientes afectos de síndrome de Crigler-Najjar (SCN). La variante c.161 G>T (p.Gly54Val), tras consultar las bases de datos (The Human Gene Mutation Database (HGMD) Public, ClinVar, Database of Single Nucleotide Polymorphisms), no ha sido descrita hasta el momento en esta enfermedad.

En el estudio de segregación de ambas variantes se ha encontrado que la variante p.Arg336Trp ha sido heredada por vía paterna y la variante p.Gly54Val por vía materna.

## DISCUSIÓN

El síndrome de Crigler-Najjar (SCN) es un trastorno hereditario autosómico recesivo causado por mutaciones en el gen UGT1A1, cuya consecuencia es una conjugación defectuosa de la bilirrubina. Son trastornos muy poco frecuentes con una incidencia estimada de menos de 1 por cada 1.000.000 nacimientos (1). La prevalencia es desconocida y solo se han descrito un centenar de casos. Se trata de una afección grave caracterizada por niveles elevados de bilirrubina sérica (2).

La bilirrubina es producto del catabolismo del grupo hemo de la hemoglobina. La bilirrubina indirecta mediante glucuronidación hepática se transforma en bilirrubina directa o conjugada. Este proceso evita la toxicidad de la bilirrubina y favorece su eliminación biliar. Una hiperbilirrubinemia no conjugada severa puede provocar kernícterus, una forma de daño cerebral causado por acumulación tóxica de bilirrubina (3).

La enzima uridina glucuronosiltransferasa 1A1 (UGT1A1) es la única implicada en la producción de glucuronidos de bilirrubina soluble. Está codificada por el gen *UGT1A1*, localizado en el brazo largo del cromosoma 2 (2q37.1). Las mutaciones del este gen producen, por tanto, deficiencias en la conjugación y excreción biliar de bilirrubina (2).

Dentro de las hiperbilirrubinemias no conjugadas de origen genético se distinguen distintas entidades clínicas, entre ellas el síndrome de Gilbert (OMIM: 143500), el síndrome de Lucey-Driscoll o hiperbilirrubinemia neonatal transitoria (OMIM: 237900), el síndrome de Crigler-Najjar tipo 1 (OMIM: 218800) y el síndrome de Crigler-Najjar tipo 2 (OMIM: 606785), todas ellas de herencia autosómica recesiva (2,4).

El síndrome de Gilbert es la forma más frecuente y benigna de ictericia hereditaria. Generalmente se manifiesta con una hiperbilirrubinemia no conjugada leve e intermitente (inferior a 7 mg/dl) en adultos jóvenes asintomáticos.

El síndrome de Lucey-Driscoll es un raro trastorno caracterizado por una hiperbilirrubinemia neonatal

transitoria severa asociada a kernícterus y parálisis cerebral, con posterior evolución hacia la resolución espontánea (2).

El SCN es una enfermedad genética rara, de la que han sido descritas dos tipos: el SCN tipo 1 (SCN1), que es la forma más grave, y el SCN tipo 2 (SCN2) o síndrome de Arias (4). El SCN1 se caracteriza por un déficit total de la enzima UGT1A1, una alta tasa de mortalidad asociada a Kernícterus y ausencia de respuesta a la terapia de inducción con fenobarbital. El SCN2 es un trastorno benigno similar al síndrome de Gilbert que cursa con déficit enzimático parcial, menor riesgo de kernícterus y respuesta al tratamiento con fenobarbital (5,6).

Desde un punto de vista clínico, una diferencia importante entre estas entidades es el grado de hiperbilirrubinemia no conjugada y la respuesta a la inducción con fenobarbital, aunque a veces la diferenciación basada en la concentración de bilirrubina sérica es difícil al tratarse de un parámetro fluctuante bajo ciertas condiciones (6-8).

En el SCN1 los niveles de bilirrubina total generalmente oscilan entre 20 y 50 mg/dl y no hay respuesta al tratamiento con fenobarbital, ya que la enzima UGT1A1 está ausente. En el SCN2 los niveles de bilirrubina habitualmente no superan los 20 mg/dl y, debido a que se conserva cierta actividad enzimática, existe una respuesta de disminución de los niveles séricos de bilirrubina superior al 30 % tras la inducción con fenobarbital (3).

No obstante, el diagnóstico definitivo del SCN es el diagnóstico genético (4). Desde un punto de vista molecular, el SCN2 suele estar causado por variantes genéticas patogénicas de tipo *missense* que provocan la sustitución de un solo aminoácido y cambio en la pauta de lectura, cuya consecuencia es una reducción de la actividad enzimática UGT1A1, mientras que el SCN1 generalmente se asocia a varias mutaciones deletéreas (2).

Debido a que las opciones terapéuticas y el pronóstico del SCN varía en función de la entidad clínica de que se trate, es importante realizar un correcto diagnóstico. Al tratarse de un trastorno autosómico recesivo, los pacientes que sufren la enfermedad son homocigotos o heterocigotos compuestos (9,10).

En el caso que presentamos, el recién nacido había presentado una ictericia severa con cifras de bilirrubina en rango exanguinotransfusión, sin clínica neurológica asociada, y con una adecuada respuesta a fenobarbital que se ha mantenido durante el seguimiento.

El estudio genético ha detectado dos variantes en heterocigosis compuesta respecto al genoma de referencia: la variante c.1006C > T (p.Arg336Trp), heredada por vía paterna, que ha sido descrita y clasificada como patogénica en pacientes con SCN, y la variante c.161G>T (p.Gly54Val), heredada vía materna, que no ha sido descrita hasta el momento como patogénica en esta enfermedad. No obstante, al tener muy baja frecuencia en la población control y detectarse en

heterocigosis compuesta con otra variante patogénica, se puede considerar como probablemente patogénica. Por tanto, el diagnóstico de SCN2 es muy probable.

En cuanto al asesoramiento genético, una vez identificadas las variantes genéticas de interés, el riesgo para esta pareja de tener otro hijo con síndrome de Crigler-Najjar es del 25 %. El diagnóstico prenatal o preimplantacional del SCN2 no está indicado, ya que se trata de una entidad con buen pronóstico, que no causa deterioro cognitivo o motor en la infancia, y de evolución favorable con tratamiento adecuado.

La identificación de las variantes patogénicas detectadas en el estudio genético permite realizar la caracterización del síndrome sospechado y la confirmación diagnóstica. Incluso podemos apoyarnos en las novedosas herramientas basadas en algoritmos para predecir la patogenicidad de una variante no descrita. En nuestra opinión, todo ello es fundamental para continuar profundizando sobre el SCN y las nuevas terapias génicas que se desarrollarán en el futuro.

## PUNTOS A RECORDAR

- El SCN es un trastorno hereditario autosómico recesivo causado por mutaciones en el gen *UGT1A1*.
- Las personas con SCN sufren una acumulación de bilirrubina que provoca ictericia al nacimiento o en la infancia.
- En el SCN2 los niveles de bilirrubina generalmente no superan los 20 mg/dl y presenta un curso benigno con tratamiento adecuado.
- El estudio genético permite la confirmación del diagnóstico de SCN2.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Fatima B, Ahmad A, Khan T, Ahmand R. Crigler Najjar syndrome [type II] with pregnancy: case report. *Int Huma Health Sci* 2019;4(1):60-2. DOI: 10.31344/ijhhs.v4i1.121
2. Memon N, Weinberger BI, Hegyi T, Aleksunes LM. Inherited disorders of bilirubin clearance. *Pediatr Res* 2019;79(3):378-86. DOI: 10.1038/pr.2015.247
3. Gailite L, Rots D, Pukite L, Cernevka G, Kreile M. Case report: multiple UGT1A1 gene variants in a patient with Crigler-Najjar syndrome. *BMC Pediatr* 2018;18(1):317. DOI: 10.1186/s12887-018-1285-6
4. Ebrahimi A, Rahim F. Crigler-Najjar syndrome: current perspectives and the application of clinical genetics. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2018;18(3):201-11. DOI: 10.2174/1871530318666171213153130
5. Sun L, Li M, Zhang L, Teng X, Chen X, Zhou X, et al. Differences in UGT1A1 gene mutations and pathological liver changes between Chinese patients with Gilbert syndrome and Crigler-Najjar syndrome type II. *Medicine* 2017;96(45). DOI: 10.1097/MD.00000000000008620
6. Raposo F, Reis Morais M, Pinheiro M, Costa M, Martinho I, Mendanha, et al. Síndrome de Crigler-Najjar tipo 2—um caso atípico. *Sci Med* 2014;24(2).
7. Maruo Y, Nakahara S, Yanagi T, Nomura A, Mimura, Y, Matsui, K, et al. Genotype of UGT1A1 and phenotype correlation between Crigler-Najjar syndrome type II and Gilbert syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2016;31(2):403-8. DOI: 10.1111/jgh.13071
8. Liaqat A, Shahid A, Attiq H, Ameer A, Imran M. Crigler-Najjar syndrome type II diagnosed in a patient with jaundice since birth. *J Coll Physicians Surg Pak* 2018;28(10):806-8. DOI: 10.29271/jcp-sp.2018.07.578.
9. Li W, Yang L, Zhou W, Zhou Y. A novel deletion with two pathogenic variants of UGT1A1 causing Crigler-Najjar syndrome in two unrelated Chinese. *Clin Biochem* 2019;71:67-8. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2019.06.013
10. Dhawan A, Lawlor MW, Mazariegos GV, McKiernan P, Squires JE, Strauss KA, et al. Disease burden of Crigler-Najjar syndrome: Systematic review and future perspectives. *J Gastroenterol Hepatol* 2019. DOI: 10.1111/jgh.14853



## Caso Clínico

# Vacuolated lymphocytes, a clinical finding in GM1 gangliosidosis

## *Linfocitos vacuolados, un hallazgo clínico en la gangliosidosis GM1*

*Silvia Montolio Breva<sup>1</sup>, Rafael Sánchez Parrilla<sup>1</sup>, Cristina Gutiérrez Fornes<sup>1</sup>, and María Teresa Sans Mateu<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona. Terres de l'Ebre. Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona, Spain. <sup>2</sup>Direcció Clínica Laboratoris ICS Camp de Tarragona. Terres de l'Ebre, Tarragona. Spain

**Received:** 06/04/2020  
**Accepted:** 08/05/2020

**Correspondence:** Silvia Montolio Breva. Laboratori Clínic ICS Camp de Tarragona. Terres de l'Ebre. Hospital Universitari Joan XXIII. C/ Dr. Mallafrè Guasch, 4, 43005 Tarragona. e-mail: smontoliob.hj23.ics@gencat.cat

## CASE REPORT

A 7-month-old infant was brought to the emergency department of our hospital with fever and respiratory distress accompanied by cough and nasal mucus. After clinical assessment, the diagnostic orientation was compatible with pneumonia. Apart from these common symptoms, there were several clinical signs worth mentioning.

On physical examination, cherry-red spots were observed all over the thorax, as well as, hypospadias. The results of complementary tests (cranial radiography, abdominal sonography...) also confirmed macrocephaly, hypotonia, ecchymosis and hepatosplenomegaly. Biochemical analysis showed a remarkable increase in the following parameters: Aspartate amino transferase (AST) 114 UI/L (VR: 5-34 UI/L), lactate dehydrogenase (LDH) 1941 UI/L (VR: 120-246 UI/L) and alkaline phosphatase (ALP) 1632 UI/L (VR: 46-116 UI/L). Blood cell count revealed thrombocytopenia ( $59 \times 10^9/L$ ). Undoubtedly, the most relevant finding was the presence of vacuolated lymphocytes (41%) in the peripheral blood smear (Fig. 1).

All these physical and clinical findings could be suggestive of a mucopolysaccharidosis and point to criteria of glycogenosis vs. other storage disorders. Therefore, the study for the differential diagnosis was completed. In fact, the patient was previously diagnosed with GM1 gangliosidosis confirmed by a massive sequencing study. The patient had a homozygous mutation in the galactosidase beta 1 (GLB1) gene (OMIM\*611458) classified as pathogenic. Unfortunately, he was died 6 months later due to complications of pneumonia and the aforementioned pathology.

## DISCUSSION

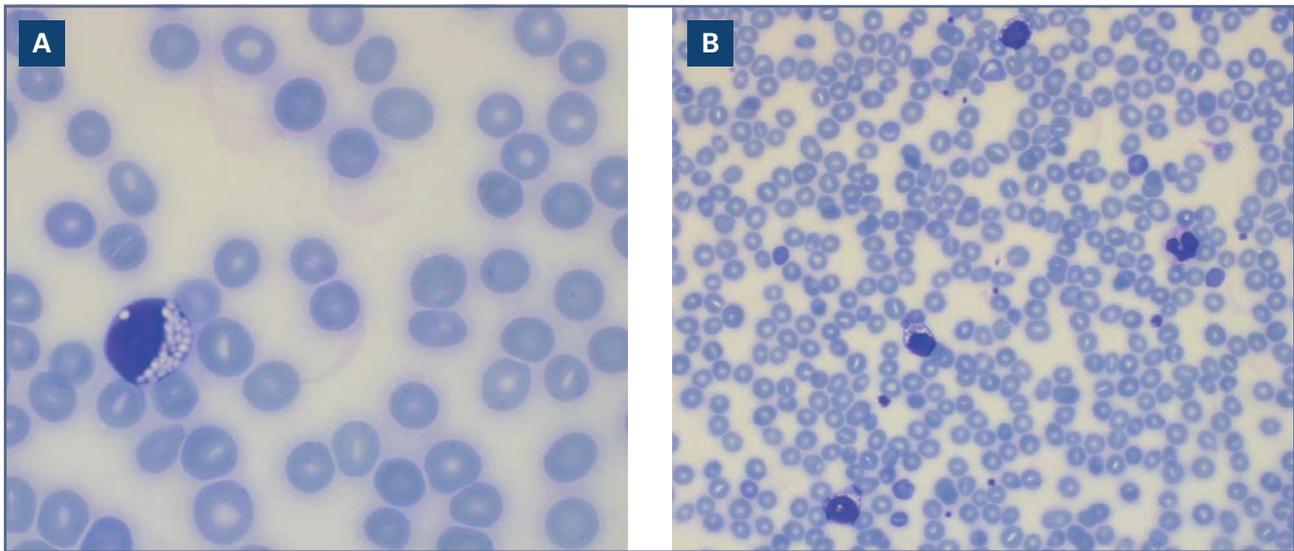
GM1 gangliosidosis is a lysosomal storage disorder, a rare inborn error of metabolism, due to deficiency of the  $\beta$ -galactosidase enzyme caused by mutations in the GLB1 gene (1). The incidence of this disease is estimated to be 1 in 100 000-200 000 live births.

GM1 gangliosidosis is classified into 3 types depending on the clinical phenotype: type 1 (infantile form/

*Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interests.*

DOI: 10.20960/revmedlab.00018

Montolio Breva S, Sánchez Parrilla R, Gutiérrez Fornes C, Sans Mateu MT. Vacuolated lymphocytes, a clinical finding in GM1 gangliosidosis. Rev Med Lab 2020;1(1):29-31



**Figure 1** – A. Vacuolated lymphocyte in a May-Grünwald-Giemsa periphera blood smear from a 7-month-old infant with GM1 gangliosidosis (100x). B. Vacuolated lymphocytes at 50x magnification.

acute) develops in the first 6 months of life and it is characterized by rapid progressive neurodegeneration, hypotonia, cherry-red spots, coarse facial appearance, hepatosplenomegaly, facial dysmorphism, skeletal dysplasia and often early death by 1-2 years of age. This is the most common and severe form of the disease.

Type 2 (juvenile form/sub-acute) develops between the second and the third year of age and shows slower progression presenting with delayed motor development and intellectual disability. Type 3 (adult form/chronic) emerges after 10 years of life and is characterized by a progressive extrapyramidal disorder, dystonia or skeletal involvement. It has been mostly described in Japanese population (1,2).

Our data reveal that all clinical findings, signs and symptoms were compatible with a lysosomal storage disease, which were confirmed by genetic study leading to a GM1 gangliosidosis. Among diagnostic tools for lysosomal storage diseases are those which are based not only on enzymatic assays and genetic screening but also on liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry (LC-ESI-MS) and flow-cytometric methods (3).

However, it is very useful in many cases to have biomarkers available and/or to pay attention to certain findings that allow a quick diagnostic orientation. In this way, although the examination of peripheral blood smear cannot be considered as a diagnostic tool, in this kind of pathology, it plays an important role. As we can observe in figure 1, the presence of lymphocytes showing multiple large bold vacuoles in their cytoplasm is an unusual finding and strongly characteristic of lysosomal storage disorders as reported Fenneteau et al. (4,5) In this way, it is worth mentioning that Gasser lymphocytes are typical of mucopolysaccharidosis and they can be observed in

Austin disease (mucosulfatidosis) or GM2 gangliosidosis. However, we can discard their presence because their morphology is characterized by inclusions within the vacuoles which consist of dark purple large granules. In our case, the vacuoles are degranulated. Furthermore, in order to discard also a glycogen storage disease as Pompe disease, we focus again on the morphology of lymphocytes. In this kind of disorder, the glycogen within the vacuoles stains positively with periodic acid-Schiff reagent (6) and the number of vacuoles is low.

As vacuolated lymphocytes may occur in many storage disorders as it has been reported, the microscopic observation of the peripheral blood smear provides important information since it allows carrying out a first differential diagnosis.

Thus, cytological abnormalities of leukocytes are a very valuable aid for having a diagnostic suspicion and allow a fast performance of complementary tests that complete the etiological profile.

In conclusion, the prevalence of GM1 gangliosidosis is low and type 1 has an important mortality associated. So, the findings in the cytological study of the present case can be useful for supporting the diagnosis of gangliosidosis before the definitive established diagnosis by biochemical and genetic tests.

## ASPECTS TO REMEMBER

- GM1 gangliosidosis is a rare inborn metabolism disease due to the deficiency of the  $\beta$ -galactosidase enzyme.
- The most common clinical signs are macrocephaly, hypotonia, hepatosplenomegaly, cherry-red spots and/or coarse facial appearance.

- Apart from biochemical alterations (AST, LDH and ALP), the cytological abnormalities of leukocytes are characteristic of lysosomal storage disorders, in particular, the vacuolated lymphocytes.
- The cytological study of the peripheral blood smear allows a rapid diagnostic orientation and provides very useful information to the clinicians.

## REFERENCES

1. Arash-Kaps L, Komlosi K, Seegräber M, Diederich S, Paschke E, Amraoui Y, et al. The clinical and molecular spectrum of GM1 gangliosidosis. *J Pediatr* 2019;215:152-7.
2. Brunetti-Pierri N, Scaglia F. GM1 gangliosidosis: Review of clinical, molecular and therapeutic aspects. *Mol Genet Metab* 2008;94:391-6.
3. Tonin R, Caciotti A, Procopio E, Fischetto R, Deodato F, Mancardi M, et al. Pre-diagnosing and managing patients with GM1 gangliosidosis and related disorders by the evaluation of GM1 ganglioside content. *Sci Rep-UK* 2019;9:17684-93.
4. Fenneteau O. Anomalías morfológicas de los leucocitos en el niño. *Acta Bioquim Clin L* 2009;43(4):665-77.
5. Fenneteau O, Hurtaud-Roux M-F, Schlegel, N. Aspect cytologique normal et pathologique du sang chez le nouveau-né et le jeune enfant. *Ann Biol Clin* 2006;64(1):17-36.
6. Hagemans MLC, Stigter RL, van Capelle CI, van der Beek NAME, Winkel LPF, van Vliet L, et al. PAS-positive lymphocyte vacuoles can be used as diagnostic screening test for Pompe disease. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:133-9.



## Imagen/Infografía

# COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico

## COVID-19. Perspective from the clinical laboratory

### Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)

Daniel Pineda Tenor<sup>1,6</sup>, Enrique Rodríguez Borja<sup>2,6</sup>, Félix Gascón Luna<sup>1,6</sup>, María Pacheco Delgado<sup>2,6</sup>, María Carmen Lorenzo Lozano<sup>1,3,6</sup>, Enrique Prada de Medio<sup>1,6</sup>, Fernando Bandrés Moya<sup>6</sup>, Verónica Cámara Hernández<sup>4</sup>, Verónica Marcos de la Iglesia<sup>4,6</sup>, María García-Alcalá Hernández<sup>5</sup>, Santiago Prieto Menchero<sup>1,2,6</sup>

<sup>1</sup>Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia de la AEBM-ML. <sup>2</sup>Comité de Informe de Laboratorio Clínico de la AEBM-ML.

<sup>3</sup>Comité de Recertificación. <sup>4</sup>Comité de Formación Continuada. <sup>5</sup>Comité de Residentes y Nuevos Especialistas.

<sup>6</sup>Junta Directiva de la AEBM-ML

**Recibido:** 20/03/2020  
**Aceptado:** 27/03/2020

**Correspondencia:** Daniel Pineda Tenor. UGC Laboratorios del Área de Gestión Sanitaria Norte de Málaga. Avenida Poeta Muñoz Rojas, s/n. 29200 Antequera, Málaga  
e-mail: dpinedatenor@gmail.com

El nuevo SARS-CoV-2 (2019-NCoV) pertenece a la familia de los coronavirus. Se caracterizan por ser virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta, y ARN monocatenario de polaridad positiva. El cuadro clínico asociado a este virus se denomina COVID-19, y se caracteriza por la presencia de fiebre y síntomas respiratorios como disnea y tos, pudiendo desarrollarse neumonía. Su periodo de incubación medio es de 5-6 días (rango 1-14 días). El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación es de 2 semanas en caso de infecciones leves, pudiendo alcanzar las 4-6 semanas en casos de mayor gravedad. Sus vías de contagio son las gotas respiratorias de más de 5 micrómetros, así como el contacto directo

con pacientes infectados, sus secreciones, o superficies contaminadas.

La presente infografía constituye un resumen de los principales aspectos a considerar desde el laboratorio clínico, abordando aspectos tales como su diagnóstico mediante RT-PCR (*real time reverse-transcription polymerase chain reaction*), las principales alteraciones que se reflejan en las pruebas de laboratorio clínico, los predictores de mortalidad más representativos, el transporte de muestras biológicas (sustancias infecciosas categoría B en triple envase P650) y los procedimientos de seguridad en el laboratorio recomendados para proteger la seguridad de los profesionales, basados en el manual de bioseguridad de la Organización Mundial de la Salud.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00013

Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio (AEBM-ML); Pineda Tenor D, Rodríguez Borja E, Gascón Luna F, Pacheco Delgado M, Lorenzo Lozano MC, Prada de Medio E, Bandrés Moya F, Cámara Hernández V, Marcos de la Iglesia V, García-Alcalá Hernández M, Prieto Menchero S. COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico. Rev Med Lab 2020;1(1):32-37



# COVID-19 | Perspectiva desde el Laboratorio Clínico

D Pineda Tenor, E Rodríguez Borja, F Gascón Luna, M Pacheco Delgado, MC Lorenzo Lozano, E Prada de Medio, F Bandrés Moya, V Cámara Hernández, V Marcos de la Iglesia, M García-Alcalá Hernández, S Prieto Menchero.

1/4

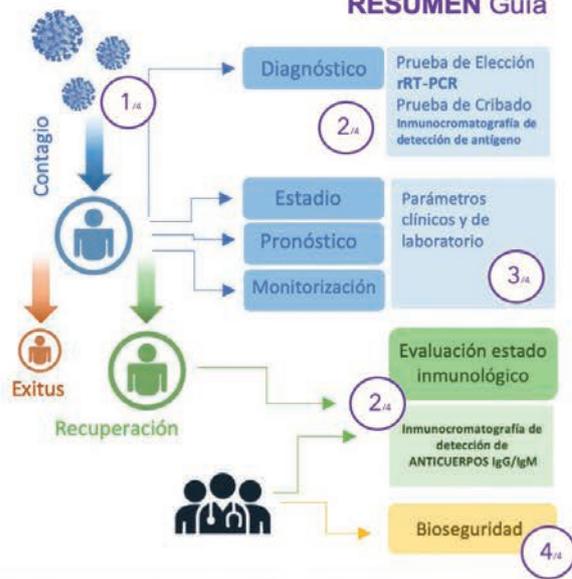
## Documento de la AEBM-ML

Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio  
Versión 2.1  
Fecha: 09 de Abril de 2020

### INTRODUCCIÓN

El nuevo coronavirus SARS-CoV-2 (2019-NCoV) pertenece a una familia de virus que causan infección en seres humanos y animales, incluyendo aves y mamíferos. Se trata de una enfermedad zoonótica, cuyo reservorio es el murciélago. Los coronavirus son virus esféricos de 100-160 nm de diámetro, con envuelta, y que contienen ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva de entre 26 y 32 kilobases de longitud. El cuadro clínico asociado a este virus se denomina COVID-19, y se caracteriza por la presencia de fiebre y síntomas respiratorios como disnea o tos, pudiendo desarrollarse neumonía. Su periodo de incubación medio es de 5-6 días, con un rango de 1 a 14 días. El tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta la recuperación es de 2 semanas en caso de infecciones leves, pudiendo alcanzar las 4-6 semanas en casos de mayor gravedad. Sus vías de contagio son las gotas respiratorias de más de 5 micrómetros o el contacto directo con pacientes infectados, sus secreciones, o superficies contaminadas. No existe evidencia suficiente acerca de la transmisión vertical del virus, aunque los escasos datos actuales sugieren ausencia de virus en líquido amniótico, cordón umbilical y leche materna. La presente infografía constituye un resumen de los principales aspectos a considerar desde el laboratorio clínico, abordando aspectos tales como su diagnóstico, las principales alteraciones que se reflejan en las pruebas de laboratorio clínico, los predictores de mortalidad más representativos, el transporte de muestras biológicas y los procedimientos de seguridad recomendados en el laboratorio.

### RESUMEN Guía



### SOSPECHA DE INFECCIÓN

Cuadro clínico compatible con **Infección Respiratoria Aguda**

Persona con un cuadro clínico de infección respiratoria aguda que se encuentre hospitalizada o que cumpla criterios de ingreso hospitalario



A

B

Persona con un cuadro clínico de infección respiratoria aguda de cualquier gravedad que pertenezca a alguno de los siguientes grupos:

- Personal sanitario o sociosanitario
- Otros servicios esenciales

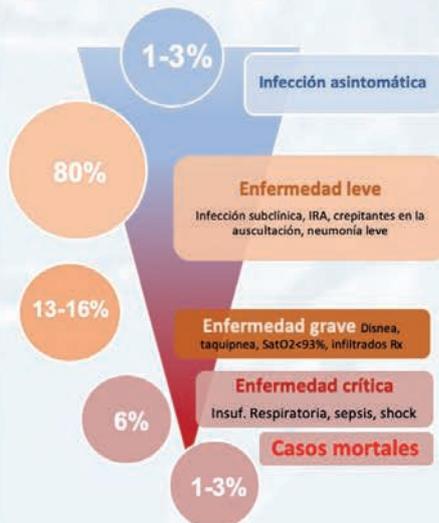
Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus / Zhou et al. Lancet 2020 Mar 11 28:395(10229):1054-1062/ Huang et al. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506 / Guan et al. N Engl J Med. 2020 Feb 28

### Clínica asociada

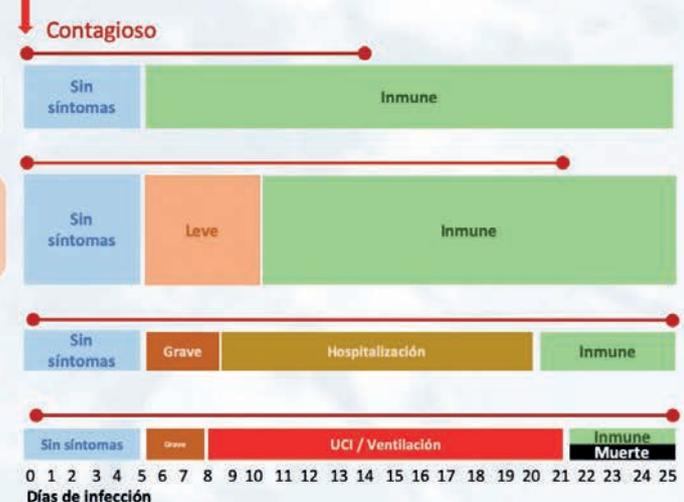
**Expectoración:** 27-34%  
**Fiebre:** 77-98%  
**Tos seca:** 46-82%  
**Disnea:** 3-31%  
**Fatiga:** 11-52%

**Mialgias:** 11-44%  
**Cefalea:** 7-14%  
**Diarrea:** 2-10%  
**Anosmia / disgeusia:** descrito

### Evolución de la enfermedad



Redibujado de: WHO. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) 2020 <https://chic.inacademia.com/>





# COVID-19 | Perspectiva desde el Laboratorio Clínico

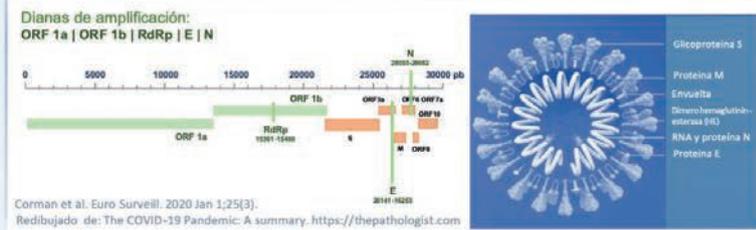
D Pineda Tenor, E Rodríguez Borja, F Gascón Luna, M Pacheco Delgado, MC Lorenzo Lozano, E Prada de Medio, F Bandrés Moya, V Cámara Hernández, V Marcos de la Iglesia, M García-Alcalá Hernández, S Prieto Menchero.

2/4

## DIAGNÓSTICO

### rRT-PCR

La técnica de confirmación de casos COVID-19 se basa en la detección de secuencias únicas de RNA viral mediante amplificación de material genético por rRT-PCR (real time reverse-transcription polymerase chain reaction), siendo necesario para alcanzar un diagnóstico la realización de una PCR de screening y una PCR de confirmación en un gen alternativo.

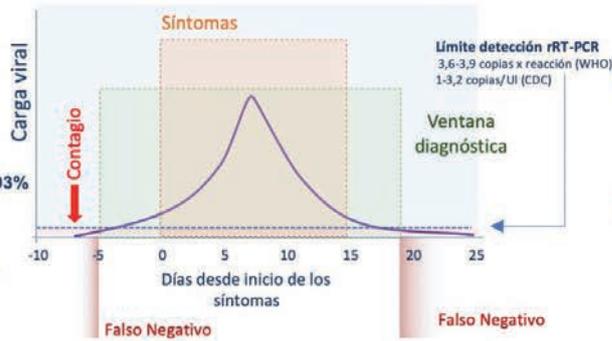


Corman et al. Euro Surveill. 2020 Jan 1;25(3). Redibujado de: The COVID-19 Pandemic: A summary. <https://thepathologist.com>

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus

### Rendimiento diagnóstico

- Lavado broncoalveolar 93%
- Espeto 72%
- Exudado nasal 63%
- Cepillado 46%
- Exudado faríngeo: 32%
- Heces: 29%
- Sangre: 1%
- Orina: 0%



Wang et al. JAMA. 2020 Mar 11

Redibujado de Lippi et al. Clin Chem Lab Med. 2020 Mar 15;0(0)

### Muestras recomendadas

- 1 **Tracto superior**  
exudado nasofaríngeo y/o orofaríngeo en pacientes ambulatorios.
- 2 **Tracto inferior**  
preferentemente lavado broncoalveolar, esputo (si es posible) y/o aspirado endotraqueal, especialmente en pacientes con enfermedad respiratoria grave.



Se recomienda que las pruebas rápidas presenten valores de sensibilidad y especificidad superiores al 70%

### Prueba rápida Antígenos virales

Tipo de muestra  
exudado nasofaríngeo o esputo profundo

- Detección de antígenos proteicos del virus. ✔
- Válida para cribado inicial ✔
- Menor rendimiento diagnóstico que rRT-PCR ✘

### Inmunocromatografía

#### Prueba rápida Anticuerpos IgM/IgG

Tipo de muestra suero, plasma o sangre total

- ✔ Detección de anticuerpos IgM (5-7 días tras inicio síntomas) e IgG (14 días tras inicio de los síntomas)
- ✔ Válida para evaluar el estado inmunológico del paciente
- ✘ No es adecuada para un cribado inicial de la enfermedad, debido al periodo ventana (tiempo desde la infección hasta la aparición de anticuerpos)

Redibujado de COVID-19 IgM/IgG Rapid diagnostic test. Biopanda Reagent



Resultado			Significado Clínico Probable
PCR	IgM	IgG	
-	-	-	Negativo
+	-	-	Periodo ventana
+	+	-	Estadio temprano de la infección
+	+	+	Fase activa de la infección
+	-	+	Fase final o infección recurrente
-	+	-	Estadio temprano con falso negativo PCR
-	-	+	Infección pasada
-	+	+	Fase de recuperación



# COVID-19 | Perspectiva desde el Laboratorio Clínico

D Pineda Tenor, E Rodríguez Borja, F Gascón Luna, M Pacheco Delgado, MC Lorenzo Lozano, E Prada de Medio, F Bandrés Moya, V Cámara Hernández, V Marcos de la Iglesia, M García-Alcalá Hernández, S Prieto Menchero.

3/4

## INFORME DE LABORATORIO

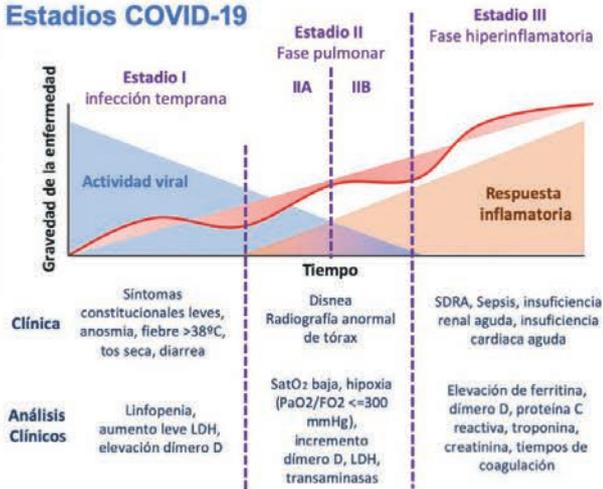
### Alteraciones Analíticas frecuentes

Parámetro	Significado clínico
Leucocitos	(Sobre) Infección bacteriana
Neutrófilos	
Linfocitos	Respuesta inmunológica disminuida
Hemoglobina	Anemia
Plaquetas	Consumo por coagulopatía diseminada
Tiempo de protrombina	Activación de la coagulación y/o coagulopatía diseminada
Dímero D	
Albumina	
Aspartato aminotransferasa	Afectación hepática
Alanina aminotransferasa	
Bilirrubina total	
Creatinina	Afectación renal
Lactato deshidrogenasa	Afectación pulmonar / afectación orgánica
Velocidad de sedimentación globular	Inflamación
Troponina	Afectación cardíaca
Proteína C reactiva	Infección viral / sepsis viral
Procalcitonina	(Sobre) Infección bacteriana
Ferritina	Inflamación severa
Citoquinas (Interleuquina 6)	Síndrome de tormenta de citoquinas



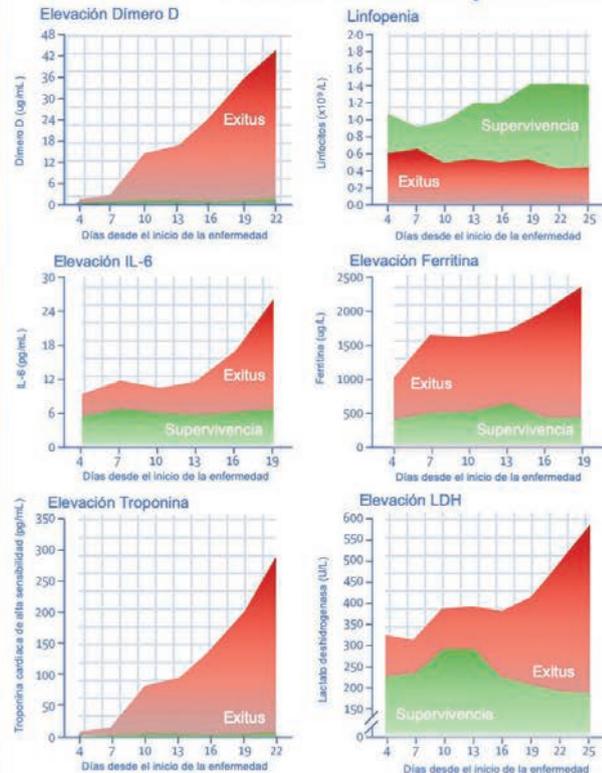
Se recomienda tratamiento Tocilizumab con valores de IL-6 >40 pg/mL

### Estadios COVID-19



Redibujado de Siddiqi et al Jhealun 2020 Mar 12

### Predictores de mal pronóstico



Redibujado de Zhou et al. Lancet 2020; 395: 1054-62.

### Evaluación SDRa

(síndrome distrés respiratorio agudo)

PaO<sub>2</sub> / FIO<sub>2</sub> <= 300

SatO<sub>2</sub> / FIO<sub>2</sub> <= 315

### Evaluación neumonía

Leve: SatO<sub>2</sub> > 90%

Grave: SatO<sub>2</sub> < 90%



# COVID-19 | Perspectiva desde el Laboratorio Clínico

D Pineda Tenor, E Rodríguez Borja, F Gascón Luna, M Pacheco Delgado, MC Lorenzo Lozano, E Prada de Medio, F Bandrés Moya, V Cámara Hernández, V Marcos de la Iglesia, M García-Alcalá Hernández, S Prieto Menchero.

4/4

## BIOSEGURIDAD

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus / Manual de bioseguridad en el laboratorio. OMS

### Muestras rutinarias de Laboratorio Clínico

Bioquímica, hematología, inmunología, anatomía patológica, microbiología

El personal que manipule muestras clínicas rutinarias (bioquímica, hemograma, orina, serología) de pacientes diagnosticados o bajo sospecha de infección por SARS-CoV-2 deberán seguir las pautas estándar y recomendaciones generales de bioseguridad establecidas para los laboratorios de nivel BSL-2. Los detalles de estas normas pueden ser consultadas en el manual de bioseguridad en el laboratorio de la Organización Mundial de la Salud.

Después de procesar las muestras, se descontaminarán las superficies de trabajo y el equipo con los desinfectantes hospitalarios habituales

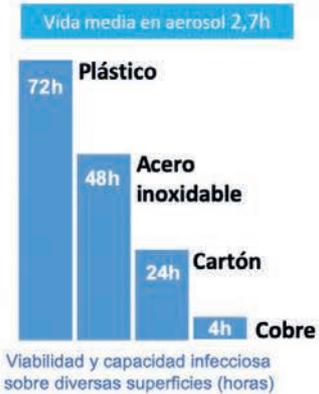
### Equipo de protección individual estándar

- Guantes desechables
- Bata de protección
- Gafas antisalpicaduras (si riesgo de salpicadura)
- Mascarilla (si riesgo de aerosoles o contacto cercano con personal/pacientes)

### Campana de seguridad biológica (BSC) de clase II

Cualquier muestras susceptible de generar aerosoles de partículas finas (vortex, sonicación de muestras en tubo abierto). Emplear en estos casos dispositivos de contención física adecuados (rotores de centrifuga adecuados, cubetas de seguridad para la centrifuga, rotores sellados). Los rotores serán cargados y descargados dentro de la cabina de seguridad

- Alicuotar y/o diluir muestras
- Inactivación de muestras
- Inoculación de medios de cultivo bacterianos o micológicos
- Preparación y fijación química o térmica de frotis para análisis microscópico.



## TRANSPORTE DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

### Categorización

Las muestras biológicas procedentes de pacientes infectados o con sospecha de infección por el SARS-CoV-2 son clasificadas como **sustancias infecciosas de categoría B**

### Embalaje de las muestras

Seguir la **instrucción de embalaje P650** del Acuerdo ADR que se aplica a la norma **UN 3373** para el embalaje de sustancias peligrosas:

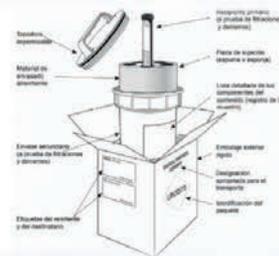
**Triple envase** robusto y a prueba de fugas, con capacidad del recipiente primario no superior a 1 litro y un volumen enviado que no exceda los 4 litros o Kg por paquete. No computa el peso del hielo seco para refrigerar las muestras

El triple envase constará de:

1. Recipiente primario estanco
2. Embalaje secundario estanco
3. Embalaje exterior rígido

El hielo o hielo seco empleado para refrigerar la muestra nunca debe ir en el interior del embalaje secundario. La información que acompaña a las muestras debe colocarse entre el embalaje secundario y el embalaje exterior.

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus



Tipo de muestra	Medio de Transporte de Virus	Condiciones de transporte: Muestra biológica categoría B
<b>Muestras respiratorias</b>		
Exudado nasofaríngeo/orofaríngeo	Sí	Refrigerado a 4°C en 24-48h
Aspirado/lavado nasofaríngeo	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Lavado broncoalveolar	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Aspirado endotraqueal	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Espujo	No	Refrigerado a 4°C en 24h
<b>Otras muestras</b>		
Suero (2 muestras en fases aguda y convaleciente a los 14-30 días respectivamente)	No	Refrigerado a 4°C
Biopsia/Necropsia de pulmón	No	Refrigerado a 4°C en 24h
Sangre completa	No	Refrigerado a 4°C
Orina	No	Refrigerado a 4°C
Heces	No	Refrigerado a 4°C

## BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social - Profesionales - Documentos técnicos para profesionales - Coronavirus [Internet]. [cited 2020 Mar 20]. Available from: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos.htm>
- Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0198. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32119647>
- Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0240. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0240>
- Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25(3).
- The COVID-19 Pandemic: A Summary. (n.d.). Retrieved March 30, 2020. Available from: <https://thepathologist.com/subspecialties/the-covid-19-pandemic-a-summary>
- Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, Liang W-H, Ou C-Q, He J-X, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32109013>
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395(10223):497-506.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)* [Internet] 2020;6736(20):1-9.
- Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* 2020. DOI: 10.1056/NEJMc2004973. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32182409>
- Lippi G, Simundic A-M, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0285. [Epub ahead of print]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+preanalytical+and+analytical+vulnerabilities+in+the+laboratory+diagnosis+of+coronavirus+disease+2019+\(COVID-19\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+preanalytical+and+analytical+vulnerabilities+in+the+laboratory+diagnosis+of+coronavirus+disease+2019+(COVID-19))
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa344. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>
- Coronavirus - semFYC. (n.d.). Retrieved March 30, 2020. Available from: <https://www.semfyec.es/coronavirus/>
- Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.3786 [Epub ahead of print]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32159775>
- Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020. DOI: 10.1001/jamainternmed.2020.0994. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 Illness in Native and Immunosuppressed States: A Clinical-Therapeutic Staging Proposal - The Journal of Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2020. DOI: 10.1016/j.healun.2020.03.012. [Epub ahead of print]. Available from: [https://www.jhltonline.org/article/S1053-2498\(20\)31473-X/abstract](https://www.jhltonline.org/article/S1053-2498(20)31473-X/abstract)
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. *J Med Virol* 2020. DOI: 10.1002/jmv.25727. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.25727>
- Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis* 2020. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101623. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101623>
- Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, et al. Diagnostic Utility of Clinical Laboratory Data Determinations for Patients with the Severe COVID-19. *J Med Virol* 2020. DOI: 10.1002/jmv.25770. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.25770>
- Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020;505:190-1. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.004. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.004>
- Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, Lim GH, Lim KGE, Tan GB, et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol* 2020. DOI: 10.1002/ajh.25774. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1002/ajh.25774>
- Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Research* 2014;194:175-83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.018>
- Henry BM, Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in children with novel coronavirus disease 2019. *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0272. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0272>
- Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England)* 2020;395(10229):1033-4. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis* 2020. DOI: 10.1016/j.pcad.2020.03.001. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2020.03.001>
- Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med* 2020. DOI: 10.1007/s00134-020-06028-z. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05991-x>
- Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020;506:145-8. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.022. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.022>
- IFCC Information Guide on COVID-19 - IFCC. (n.d.). Retrieved April 3, 2020. Available from: <https://www.ifcc.org/ifcc-news/2020-03-26-ifcc-information-guide-on-covid-19/>
- Pineda D, Prieto S. Interpretación de la Gasometría en el laboratorio clínico. 2ª ed. AEBM-ML. Disponible en: <https://www.aebm.org/imagenes/activos/publicaciones/Manual-Gasometria-AEBM-ML-2ed-2017.compressed.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3ª ed. Disponible en: [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)
- Recomendaciones de la SANAC para los laboratorios de análisis clínicos/bioquímica clínica relativas al manejo de muestras de pacientes con sospecha de infección por coronavirus 2019-ncov. Disponible en: [https://sanac.org/imagenes/site/RECOMENDACIONES\\_SANAC\\_MANEJO\\_MUESTRAS\\_COVID-19.pdf](https://sanac.org/imagenes/site/RECOMENDACIONES_SANAC_MANEJO_MUESTRAS_COVID-19.pdf)



## Imagen/Infografía

# COVID-19. Perspective from the clinical laboratory

## COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico

### Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio (AEBM-ML)

Daniel Pineda Tenor<sup>1,6</sup>, Enrique Rodríguez Borja<sup>2,6</sup>, Félix Gascón Luna<sup>1,6</sup>, María Pacheco Delgado<sup>2,6</sup>, María Carmen Lorenzo Lozano<sup>1,3,6</sup>, Enrique Prada de Medio<sup>1,6</sup>, Fernando Bandrés Moya<sup>6</sup>, Verónica Cámara Hernández<sup>4</sup>, Verónica Marcos de la Iglesia<sup>4,6</sup>, María García-Alcalá Hernández<sup>5</sup>, Santiago Prieto Menchero<sup>1,2,6</sup>

<sup>1</sup>Comité de Calidad, Gestión, Seguridad y Evidencia de la AEBM-ML. <sup>2</sup>Comité de Informe de Laboratorio Clínico de la AEBM-ML.

<sup>3</sup>Comité de Recertificación. <sup>4</sup>Comité de Formación Continuada. <sup>5</sup>Comité de Residentes y Nuevos Especialistas.

<sup>6</sup>Junta Directiva de la AEBM-ML

**Received:** 20/03/2020  
**Accepted:** 27/03/2020

**Correspondence:** Daniel Pineda Tenor. UGC Laboratorios del Área de Gestión Sanitaria Norte de Málaga. Avenida Poeta Muñoz Rojas, s/n. 29200 Antequera, Málaga, Spain  
e-mail: dpinedatenor@gmail.com

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interests.

DOI: 10.20960/revmedlab.00023

Asociación Española de Biopatología Médica - Medicina de Laboratorio (AEBM-ML); Pineda Tenor D, Rodríguez Borja E, Gascón Luna F, Pacheco Delgado M, Lorenzo Lozano MC, Prada de Medio E, Bandrés Moya F, Cámara Hernández V, Marcos de la Iglesia V, García-Alcalá Hernández M, Prieto Menchero S. COVID-19. Perspectiva desde el laboratorio clínico. Rev Med Lab 2020;1(1):38-43



# COVID-19 | Perspective from the Clinical Laboratory

Pineda Tenor D, Rodríguez Borja E, Gascón Luna F, Pacheco Delgado M, Lorenzo Lozano MC, Prada de Medio E, Bandrés Moya F, Cámara Hernández V, Marcos de la Iglesia V, García-Alcalá Hernández M, Prieto Menchero S.

1/4

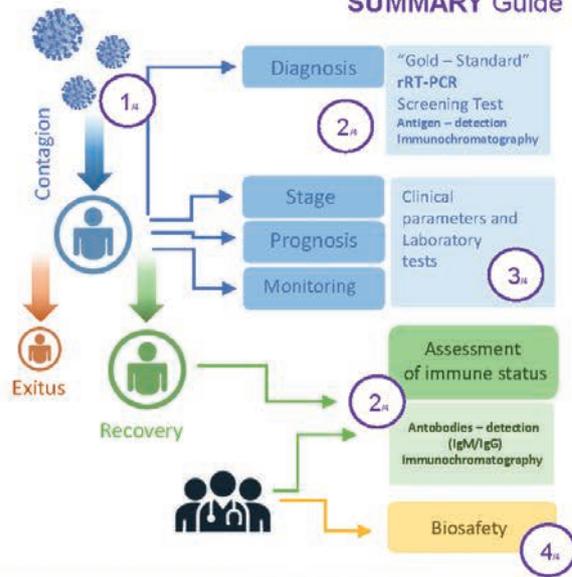
## AEBM-ML Information Guide

Asociación Española de Biopatología Médica – Medicina de Laboratorio  
Version 2.1  
Date: April 9th 2020

### INTRODUCTION

The new coronavirus SARS-CoV-2 (2019-NCoV) belongs to a family of virus that cause infections in human and animals, including mammals and birds. It is believed to have zoonotic origins, suggesting it emerged from a bat-borne virus. Coronavirus virions are spheres approximately 100–160 nanometres in diameter, with viral envelope. They are positive-sense single-stranded RNA (+ssRNA) virus, with a single linear RNA segment of approximately 26 – 32 kilobases in length. The infectious disease caused by this virus is called COVID-19 and its common symptoms include fever, cough, and shortness of breath that may progress to viral pneumonia. The time from exposure to onset of symptoms is typically around 5 or 6 days but may range from 1 to 14 days. The time from onset of symptoms to full recovery is around 2 weeks in the case of mild infections and may reach 4-6 weeks in more severe cases. It is primarily spread during close contact with infected patients and their secretions, by contaminated surfaces and by small droplets (with a diameter greater than 5 µm) produced when people cough, sneeze or talk. There is no evidence about vertical transmission, although current data suggest virus absence in amniotic fluid, umbilical cord and breast milk. This document provides a summary of the key aspects to be considered by the clinical laboratory such as diagnosis, main alterations in laboratory tests, most representative mortality predictors, transportation of biological samples and safety procedures recommended in the laboratory.

### SUMMARY Guide



### INFECTION SUSPECTED

Clinical picture compatible with **Acute Respiratory Failure**

Clinical picture of Acute Respiratory Failure in an inpatient or a patient with hospital admission criteria

**B** Clinical picture of Acute Respiratory Failure of any degree of severity that belongs to one of the following groups:

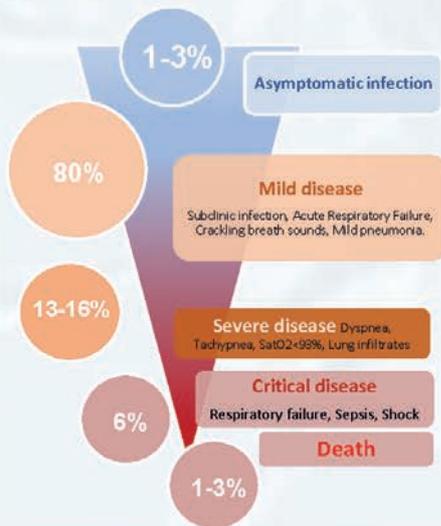
- Health or social – health staff
- Other essential services

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus / Zhou et al. Lancet 2020 Mar 11 28;395(10229):1054-1062/ Huang et al. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506 / Guan et al. N Engl J Med. 2020 Feb 28

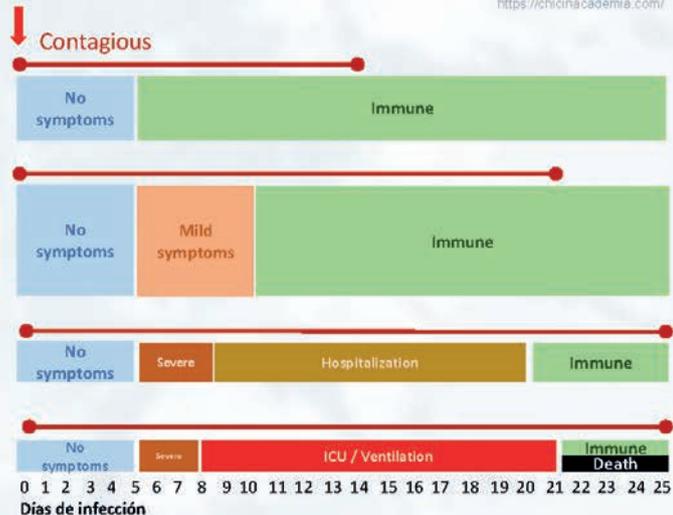
#### Related symptoms

**Expectoration:** 27-34%  
**Myalgia:** 11-44%  
**Headache:** 7-14%  
**Diarrhea:** 2 -10%  
**Anosmia / dysgeusia:** described

### Evolution of the disease



References: WHO. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) 2020 <https://chicnacademia.com/>





# COVID-19 | Perspective from the Clinical Laboratory

Pineda Tenor D, Rodríguez Borja E, Gascón Luna F, Pacheco Delgado M, Lorenzo Lozano MC, Prada de Medio E, Brandrés Moya F, Cámara Hernández V, Marcos de la Iglesia V, García-Alcalá Hernández M, Prieto Menchero S.

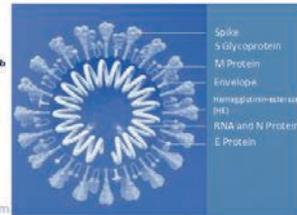
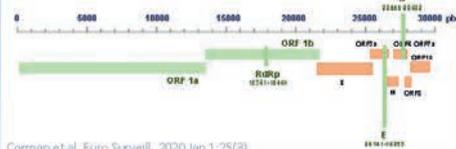
2/4

## DIAGNOSIS

### rRT-PCR

The standard method of testing COVID-19 is based on detection of unique RNA viral sequences through amplification of genetic material by rRT-PCR (real time reverse-transcription polymerase chain reaction). In order to achieve a complete diagnosis, two PCR reactions must be performed (screening and confirmation in an alternative gene).

Amplification targets:  
ORF 1a | ORF 1b | RdRp | E | N

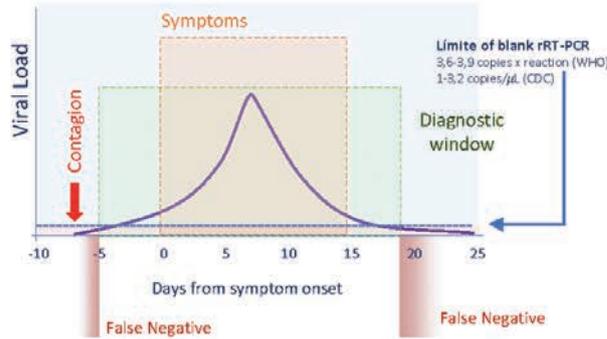


Corman et al. Euro Surveill. 2020 Jan 1;25(3).  
Redesigned from: The COVID-19 Pandemic: A summary. <https://thepathologist.com>

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus

### Diagnostic Performance

- Bronchoalveolar lavage fluid 93%
- Sputum 72%
- Nasal swabs 63%
- Fibrobronchoscope brush biopsy 46%
- Pharyngeal swabs 32%
- Feces: 29%
- Blood: 1%
- Urine: 0%



Wang et al. JAMA. 2020 Mar 11

Reference: Lippi et al. Clin Chem Lab Med. 2020 Mar 15;0(0)

### Reference specimens

- Upper tract**  
Nasopharyngeal and oropharyngeal swabs in ambulatory patients.
- Lower tract**  
Lower respiratory specimens (sputum and/or endotracheal aspirate or bronchoalveolar lavage) in patients with severe respiratory disease



A sensitivity and specificity greater than 70% is highly recommended for rapid tests.

### Rapid Test: Viral Antigens

Reference specimen  
Nasopharyngeal swabs or Deep sputum

Viral protein antigen detection. **Useful for initial screening**

Lower diagnostic performance than rRT-PCR

### Immunochromatography

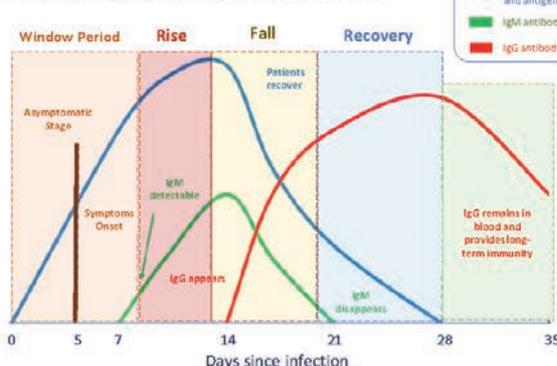
#### Rapid Test: IgM/IgG Antibodies

Reference specimen: Serum, Plasma or Blood

**Useful for Assessment of immune status**  
IgM (5-7 days from symptom onset) and IgG (14 days from symptom onset) detection

**Not recommended for initial screening due to the window period (time from infection to antibodies onset)**

Reference: COVID-19 IgM/IgG Rapid diagnostic test, Biopanda Reagent



Test Results			Probable Clinical Significance
PCR	IgM	IgG	
-	-	-	Negative
+	-	-	Window Period
+	+	-	Early stage of infection
+	+	+	Active phase of infection
+	-	+	Late or recurrent stage of infection
-	+	-	Early stage of infection. PCR result may be a false-negative.
-	-	+	Past infection
-	+	+	Recovery stage of infection



# COVID-19 | Perspective from the Clinical Laboratory

Pineda Tenor D, Rodríguez Borja E, Gascón Luna F, Pacheco Delgado M, Lorenzo Lozano MC, Prada de Medio E, Bandrés Moya F, Cámara Hernández V, Marcos de la Iglesia V, García-Alcalá Hernández M, Prieto Menchero S.

3/4

## LABORATORY REPORT

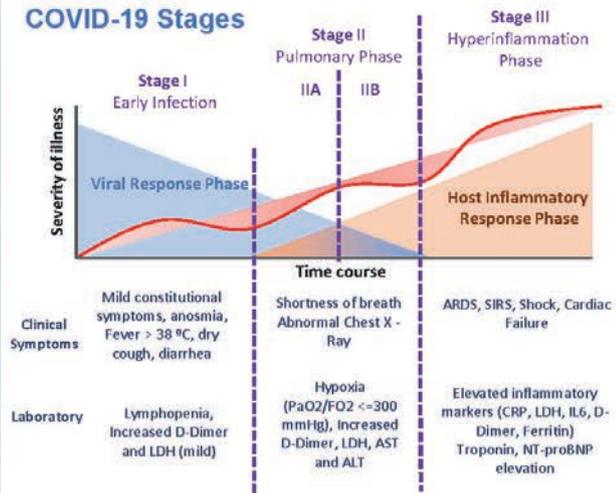
### Frequent altered tests

Tests	Clinical Significance
↑ Leucocytes	(Additional) bacterial infection
↑ Neutrophiles	(Additional) bacterial infection
↓ Lymphocytes	Decreased immunological response
↓ Hemoglobin	Anemia
↓ Platelets	Consumption by disseminated coagulation
↑ Prothrombin time	Coagulation activation and/or disseminated coagulopathy
↑ D - Dimer	Coagulation activation and/or disseminated coagulopathy
↓ Albumin	
↑ Aspartate aminotransferase	Liver failure
↑ Alanine aminotransferase	
↑ Total Bilirubin	
↑ Creatinine	Kidney damage
↑ Lactate dehydrogenase	Lung damage/ multiorganic damage
↑ Erythrocyte sedimentation rate	Inflammation
↑ Troponin	Heart damage
↑ C - Reactive Protein	Viral infection / Viral sepsis
↑ Procalcitonin	(Additional) bacterial infection
↑ Ferritin	Severe inflammation
↑ Cytokines (Interleukin 6)	Cytokine Storm Syndrome (CSS)



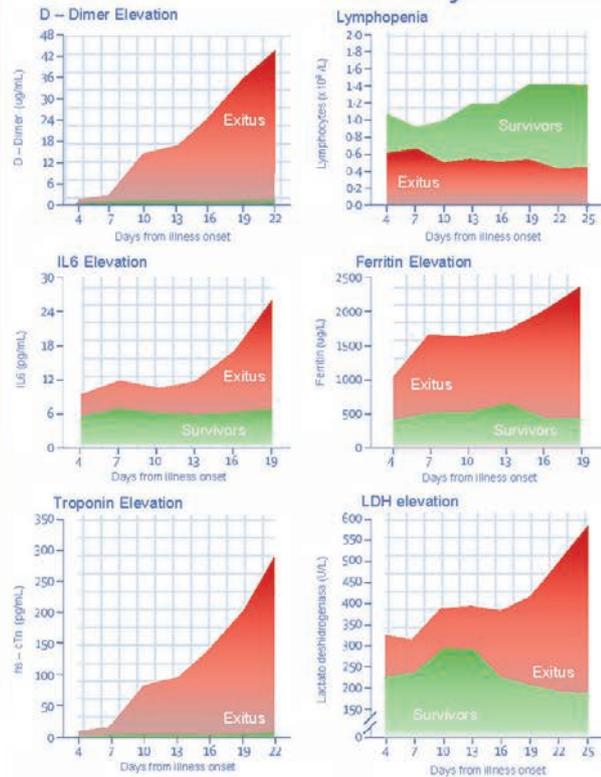
It is recommended starting treatment with Tocilizumab if IL-6 values are higher than 40 pg/mL

## COVID-19 Stages



Reference: Siddiqi et al Jhealun 2020 Mar 12

## Mortality Predictors



Reference: Zhou et al. Lancet 2020; 395: 1054-62

## ARDS Evaluation

(acute respiratory distress syndrome)  
 PaO<sub>2</sub> / FI O<sub>2</sub> <= 300  
 SatO<sub>2</sub> / FI O<sub>2</sub> <= 315

## Pneumonia Evaluation

Mild: SatO<sub>2</sub> > 90%  
 Severe: SatO<sub>2</sub> < 90%



# COVID-19 | Perspective from the Clinical Laboratory

Pineda Tenor D, Rodríguez Borja E, Gascón Luna F, Pacheco Delgado M, Lorenzo Lozano MC, Prada de Medio E, Bandrés Moya F, Cámara Hernández V, Marcos de la Iglesia V, García-Alcalá Hernández M, Prieto Menchero S.

4/4

## BIOSAFETY

Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus / Manual de bioseguridad en el laboratorio. OMS

### Clinical Laboratory: Routine Samples

Biochemistry, Hematology, Immunology, Microbiology and Anatomical Pathology

Personnel handling routine clinical samples (biochemistry, hematology, urine, serology) of diagnosed patients or under suspicion of SARS-CoV-2 infection, must follow biosafety standard guidelines and general recommendations established for Biosafety Level 2 (BSL-2) laboratories. All the details concerning these guidelines can be consulted online in World Health Organization (WHO) Laboratory Biosafety Manual.

<https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>

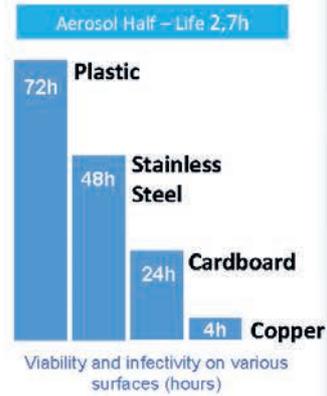
Following sample processing, all work surfaces and equipment will be decontaminated using the usual disinfectants

### Standard Individual Protection Equipment (IPE)

- Disposable gloves
- Protection gown
- Safety splash goggles (if there is a risk of splashing)
- Mask (if there is a risk of aerosols or direct contact with patients/people)

### Biological Safety Cabinet (BSC) Class II

- Any sample likely to produce aerosols containing small droplets (vortex, sample sonication in a open tube). Appropriate sealable centrifuge rotors and sealable buckets must be employed. Rotors will be loaded and unloaded inside the biological safety cabinet.
- Samples dilution and aliquoting
- Inactivation of samples
- Inoculation of bacterian or mycological culture media
- Preparation and chemical or thermal fixation of smear tests



Doralemen et al. N Engl J Med. 2020 Mar 17

## TRANSPORTATION OF BIOLOGICAL SPECIMENS

### Categorization

Biological specimens from infected patients or under suspicion of infection by SARS-CoV-2 will be classified as **infectious substances category B**

### Specimen Packing

Infectious substances subclassified as Category B (UN 3373) and packaged in accordance with **Packing Instruction P650** may be considered safe and compliant for all modes of transportation:

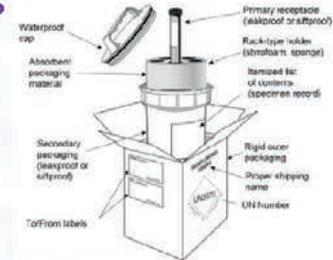
Robust and leak proof **Basic triple packaging**. The primary receptacle capacity won't be more than 1 liter. Total packaging won't exceed 4 liters or kilos. Dry ice won't be considered in the total weight.

The triple packaging system must comprise three layers:

1. Impermeable primary receptacle
2. Impermeable second layer
3. Rigid third layer

Dry ice or ice must be contained only on the primary receptacle.

All the simple related information must be placed between the second and the third layer.



Specimens	Virus Transport Medium	Transport conditions: Biological specimen Category B
<b>Respiratory specimens</b>		
Nasopharyngeal and oropharyngeal swabs	Yes	Refrigerated (4 °C) in 24 – 48 hours
Nasopharyngeal lavage/aspirate	No	Refrigerated (4 °C) in 24 hours
Bronchoalveolar lavage	No	Refrigerated (4° C) in 24 hours
Endotracheal aspirate	No	Refrigerated (4 °C) in 24 hours
Sputum	No	Refrigerated (4 °C) in 24 hours
<b>Other samples</b>		
Serum (2 samples in acute phase and convalescence, 14-30 days respectively)	No	Refrigerated (4 °C)
Lung biopsy/necropsy	No	Refrigerated (4 °C) in 24 hours
Total blood	No	Refrigerated (4 °C)
Urine	No	Refrigerated (4 °C)
Feces	No	Refrigerated (4 °C)

Referencia: Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Documentos técnicos para profesionales. Coronavirus

## RECOMMENDED REFERENCES

- Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social - Profesionales - Documentos técnicos para profesionales - Coronavirus [Internet]. [cited 2020 Mar 20]. Available from: <https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos.htm>
- Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0198. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32119647>
- Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0240. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0240>
- Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25(3).
- The COVID-19 Pandemic: A Summary. (n.d.). Retrieved March 30, 2020. Available from: <https://thepathologist.com/subspecialties/the-covid-19-pandemic-a-summary>
- Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, Liang W-H, Ou C-Q, He J-X, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med* 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32109013>
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395(10223):497-506.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)* [Internet] 2020;6736(20):1-9.
- Van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* 2020. DOI: 10.1056/NEJMc2004973. [Epub ahead of print]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32182409>
- Lippi G, Simundic A-M, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0285. [Epub ahead of print]. Available from: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+preanalytical+and+analytical+vulnerabilities+in+the+laboratory+diagnosis+of+coronavirus+disease+2019+\(COVID-19\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Potential+preanalytical+and+analytical+vulnerabilities+in+the+laboratory+diagnosis+of+coronavirus+disease+2019+(COVID-19))
- Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa344. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>
- Coronavirus - semFYC. (n.d.). Retrieved March 30, 2020. Available from: <https://www.semfyec.es/coronavirus/>
- Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA* 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.3786 [Epub ahead of print]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32159775>
- Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020. DOI: 10.1001/jamainternmed.2020.0994. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>
- Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 Illness in Native and Immunosuppressed States: A Clinical-Therapeutic Staging Proposal - The Journal of Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2020. DOI: 10.1016/j.healun.2020.03.012. [Epub ahead of print]. Available from: [https://www.jhltonline.org/article/S1053-2498\(20\)31473-X/abstract](https://www.jhltonline.org/article/S1053-2498(20)31473-X/abstract)
- Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. *J Med Virol* 2020. DOI: 10.1002/jmv.25727. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.25727>
- Rodríguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis* 2020. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101623. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101623>
- Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, et al. Diagnostic Utility of Clinical Laboratory Data Determinations for Patients with the Severe COVID-19. *J Med Virol* 2020. DOI: 10.1002/jmv.25770. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1002/jmv.25770>
- Lippi G, Plebani M. Procalcitonin in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020;505:190-1. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.004. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.004>
- Fan BE, Chong VCL, Chan SSW, Lim GH, Lim KGE, Tan GB, et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol* 2020. DOI: 10.1002/ajh.25774. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1002/ajh.25774>
- Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. *Virus Research* 2014;194:175-83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2014.03.018>
- Henry BM, Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in children with novel coronavirus disease 2019. *Clin Chem Lab Med* 2020. DOI: 10.1515/cclm-2020-0272. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0272>
- Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ; HLH Across Speciality Collaboration, UK. Across Speciality Collaboration, UK. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England)* 2020;395(10229):1033-4. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
- Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis* 2020. DOI: 10.1016/j.pcad.2020.03.001. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2020.03.001>
- Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med* 2020. DOI: 10.1007/s00134-020-06028-z. [Epub ahead of print]. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05991-x>
- Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020;506:145-8. DOI: 10.1016/j.cca.2020.03.022. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.022>
- IFCC Information Guide on COVID-19 - IFCC. (n.d.). Retrieved April 3, 2020. Available from: <https://www.ifcc.org/ifcc-news/2020-03-26-ifcc-information-guide-on-covid-19/>
- Pineda D, Prieto S. Interpretación de la Gasometría en el laboratorio clínico. 2ª ed. AEBM-ML. Disponible en: <https://www.aebm.org/imagenes/activos/publicaciones/Manual-Gasometria-AEBM-ML-2ed-2017.compressed.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. 3ª ed. Disponible en: [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)
- Recomendaciones de la SANAC para los laboratorios de análisis clínicos/bioquímica clínica relativas al manejo de muestras de pacientes con sospecha de infección por coronavirus 2019-ncov. Disponible en: [https://sanac.org/imagenes/site/RECOMENDACIONES\\_SANAC\\_MANEJO\\_MUESTRAS\\_COVID-19.pdf](https://sanac.org/imagenes/site/RECOMENDACIONES_SANAC_MANEJO_MUESTRAS_COVID-19.pdf)

## Imagen/Infografía

# Cristales de colesterol en líquido pleural

## *Cholesterol crystals in pleural fluid*

Aránzazu Martín García<sup>1</sup>, Álvaro Llorente Ujado<sup>2</sup> y Jonathan Coronado Colorado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Bioquímica Clínica-Análisis Clínicos de Urgencias y <sup>2</sup>Laboratorio de Hematología de Urgencias. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Majadahonda, Madrid

**Recibido:** 27/03/2020  
**Aceptado:** 31/03/2020

**Correspondencia:** Aránzazu Martín García. Laboratorio de Bioquímica Clínica-Análisis Clínicos de Urgencias. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. C/ Manuel de Falla, s/n. 28222 Majadahonda. Madrid  
e-mail: arantxamartingarcia@hotmail.com

## INTRODUCCIÓN

El pseudoquilotórax o derrame pleural quiliforme se caracteriza por tener aspecto turbio o lechoso debido a un alto contenido en lípidos. Las dos causas más frecuentes son la tuberculosis y la artritis reumatoide.

La mayoría de los pacientes padecen derrames pleurales de larga evolución. El colesterol presente en el espacio pleural está asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL). La presencia de niveles de colesterol en el líquido pleural por encima de 200 mg/dl es muy sugestiva de pseudoquilotórax.

## CASO CLÍNICO

Un paciente varón no fumador de 80 años y con 20 años de historia de artritis reumatoide, fue ingresado por aparición de disnea grave y tos en los últimos 3 días.

En el examen físico se reveló derrame pleural derecho.

Se diagnosticó de pseudoquilotórax por toracocentesis con engrosamiento pleural.

En la bioquímica del líquido pleural se observaron concentraciones elevadas de colesterol.

En la imagen de la figura 1 se observan abundantes estructuras cristalinas correspondientes a cris-



**Figura 1** – Cristales de colesterol en líquido pleural.

*Conflicto de intereses:* los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00011

Martín García A, Llorente Ujado Á, Coronado Colorado J. Cristales de colesterol en líquido pleural. Rev Med Lab 2020;1(1):44-45

tales de colesterol. Las imágenes que presentamos corresponden a un analizador destinado al estudio de sedimento urinario por análisis de fotografía a 400 aumentos. El estudio microscópico del líquido mostró cristales de colesterol con placas romboideas y con esquinas cortadas. Aparecieron con forma laminar, incolora, transparente e irregular. Se decidió observar en el analizador de sedimentos con luz clara y contraste de fases, observándose claramente los cristales que confirmaron el diagnóstico. No es el uso habitual de estos analizadores pero pueden ayudar a una mejor observación de estas estructuras poco frecuentes.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ferreiro L, Alvarez-Dobaño JM, Valdés L. Tuberculous pleural effusion. *Arch Bronconeumol* 2011;47:361-70. DOI: 10.1016/j.arbres.2011.02.010
2. Huggins JT. Chylothorax and cholesterol pleural effusion. *Semin Respir Crit Care Med* 2010;31:743-50. DOI: 10.1055/s-0030-1269834
3. Wrightson JM, Stanton AE, Maskell NA, Davies RJ, Lee YC. Pseudochylothorax without pleural thickening: Time to reconsider pathogenesis? *Chest* 2009;136:1144-7. DOI: 10.1378/chest.09-0445
4. Shen PU, Blair JL. Cholesterol crystals causing falsely elevated automated cell count. *Am J Clin Pathol* 2006;125:258-63.
5. Garcia-Zamalloa A, Ruiz-Iratorza G, Aguayo FJ, Gurrutxaga N. Pseudochylothorax. Report of 2 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1999;78:200-7. DOI: 10.1097/00005792-199905000-00006