

# Presencia Bioquímica

Medio de difusión de la Asociación de Bioquímicos de Córdoba

## *Primavera*

### TRABAJO CIENTÍFICO

Determinación de la mutación  
flt3-itd por dos métodos en pacientes  
con leucemia mieloblástica aguda:  
comparación e implementación de un  
nuevo método



9 de Julio 1085 - Córdoba - CP 5.000

[www.bioquimicoscba.com.ar](http://www.bioquimicoscba.com.ar) - Tel. 0351 4245330 - 4232153



Buscanos en Facebook



# MONODISCOS

Impresos en ambos lados

- Con indicación de
- \* Sigla y potencia
  - \* Fácil identificación

**Sólo . . .**



**Brizuela-Lab.**

# TECNOLOGÍA VS. BIOQUÍMICOS...



Recientemente el Rector de la Universidad emitió públicamente conceptos que parecían proponer más aparatos y menos bioquímicos. La evolución del conocimiento es inevitable. Ahora bien, la salud humana hoy ¿cuántos cambios merece y necesita? ¿Cuál es el perfil del bioquímico que la sociedad actual necesita?

Esta evolución debe hacernos tomar conciencia de todas las oportunidades que se nos presentan a partir de nuestras actividades reservadas y a entender que mantener el posicionamiento social es tarea de todos.

Más que una época de cambios, estamos viviendo un cambio de época. Pronto habrá vehículos en la calle que no necesiten de un conductor humano, ¿pasará esto en los Laboratorios Clínicos?

La velocidad del cambio nos supera en la capacidad de adaptación. Necesitamos actualizar nuestros conocimientos y habilidades en el uso de técnicas superadoras en sensibilidad, precisión, inmediatez de resultados y costos, sin dejar de lado la relación humana con nuestros pacientes.

¿Dónde quedará nuestro criterio clínico que, en el equipo de salud, le aporta al profesional médico información valiosa sobre diagnóstico, evolución, pronóstico de distintas patologías de sus pacientes? ¿Quiénes les informaran sobre el uso apropiado de las nuevas técnicas, por ejemplo, en relación con la cantidad de determinaciones diferentes, cada vez mayor y en muchos casos de interpretación más compleja?

De todas maneras, no existe en nuestro medio tecnología instalada cuyos beneficios no conozcamos los bioquímicos. Sabemos de su funcionamiento, de sus aplicaciones, de sus limitaciones, aunque no siempre son adecuadamente conocidas por el equipo de salud, por lo cual su utilización no genera los resultados esperados y en ocasiones subestiman nuestra formación específica.

¿En qué aspecto no podrá ser reemplazada ni superada nuestra presencia como bioquímicos de perfil asistencial cuya formación se orienta a desempeñarnos cada día en ámbitos de mayor complejidad?

En el equipo de salud, muchos no entienden que nuestros conocimientos se despliegan desde la etapa preanalítica, pasando por la analítica "de mesada" y en la etapa post analítica. Desconocen que detrás de un resultado aportado por una máquina, está el bioquímico validando el resultado obtenido.

La tecnología disponible, tanto cualitativa como cuantitativamente, habrá de redundar en mejores servicios para nuestros pacientes.

Se hace imprescindible redefinir el perfil del bioquímico en la era de la tecnología y en esta tarea debemos comprometernos todas las entidades profesionales bioquímicas juntamente con las Facultades que nos forman.

*Dra. Videla Isabel*

**SUMARIO**

Editorial.....	1
Sumario.....	2
Boletín informativo.....	3
Novedades.....	4

**SEPARATA**

Determinación de la mutación flt3-itd por dos métodos en pacientes con leucemia mieloblástica aguda: comparación e implementación de un nuevo método.....	5
---	---

**Asociación de Bioquímicos de Córdoba**

Personería jurídica N° 4850  
Decreto N° 9647

Presencia Bioquímica es un medio de difusión propiedad de la Asociación de Bioquímicos de Córdoba

Director general  
Dra. Videla Dora Isabel

Director ejecutivo  
Dra. Alonso Gabriela

Director administrativo  
Dr. Bianchi Oscar

Comité científico  
Dra. Balseiro María Isabel  
Dr. Bocco José Luis  
Dra. Massa María Angélica  
Dr. Moretti Edgardo  
Dr. Ovejero Gustavo  
Dra. Romero Marta  
Dra. Salgado Susana  
Dr. Gennero Daniel  
Dra. Basso Beatriz  
Dr. Juan Martínez

Redacción y administración  
9 de Julio 1085  
Tel. 0351 4232153  
CP 5000  
Córdoba  
e-mail: [abioc@fibertel.com.ar](mailto:abioc@fibertel.com.ar)

**Comisión Directiva**

Presidente:	Dra. Videla D. Isabel
Vicepresidente:	Dr. Ruiz Dante Julio
Secretaria de Actas:	Dra. Dimaría Luisa H.
Secretario de Hacienda:	Dr. Bianchi Oscar
Secretaria Gremial:	Dra. Bujedo Noemí
Secretaria de Cultura y Acción Social:	Dra. Londero Silvia
Secretaria de Relaciones Públicas, Prensa y Propaganda:	Dra. Alonso Gabriela
Secretario de Asuntos Universitarios y Científicos:	Dr. Ovejero Gustavo
Secretaria suplente:	Dra. Bustos Martínez, Natalia
Secretaria suplente:	Dra. Mira, María Alejandra
Secretaria suplente:	Dra. Rolutti, Virginia

**Tribunal de Honor**

<b>Miembros Titulares:</b>	Dr. Pittavino Héctor Dra. Bísaro Lyda Dra. Bendersky, Martha
----------------------------	--

<b>Miembros Suplentes:</b>	Dra. Rosso Raquel Dr. Mochulsky Daniel Dra. Nahas Andrea
----------------------------	--

**Comisión Revisora de Cuentas**

<b>Miembros Titulares:</b>	Dr. Gentile José Dra. Geisbuhler Myriam Dra. Alvarez Susana
----------------------------	---

<b>Miembros Suplentes:</b>	Dra. Guevara Lila Dra. Bado Mónica
----------------------------	---------------------------------------

Presencia Bioquímica, es una publicación de distribución gratuita. Los artículos firmados son de exclusiva responsabilidad del autor. El material publicado puede ser reproducido sin autorización, citando la fuente. Registro de propiedad intelectual No 5351637 ISSN 0326-0070

Impreso en: Imprenta Tauro  
Pigüe 2812  
B° San Carlos

## INCREMENTO DE ARANCELES

**OSPIA:** A partir del 01.08.2018 abona arancel NBU \$ 24.00

**A.P.M:** A partir del 01.07.2018 abona arancel NBU \$ 30.25

**C.P.C.E:** A partir del 01.08.2018 abona arancel NBU \$ 29.90 ( Bioq. Capital) y NBU \$ 31.00 ( Bioq. Interior)

**BOREAL:** A partir del 01.08.2018 abona arancel NBU \$ 24.40

**SCIS:** A partir del 01.08.2018 abona arancel NBU \$ 24.50

**LUIS PASTEUR:** A partir del 01.09.2018 abona arancel NBU \$ 32.42

**PODER JUDICIAL:** A partir del 01.08.2018 abona arancel NBU \$ 30.00

### SCIS

Se informa que a partir del 01.09.2018 SCIS no tendrá más a su cargo las prestaciones médico asistenciales de los afiliados de OSPCRA ( Obra Soc.del Personal de Cementerios de la Rep.Arg.)

### OSPIA

Se informa que a partir del 01.09.2018 se comenzará con un nuevo formato de órdenes color verde claro que reúne los mismos datos de las que se vienen utilizando hasta la fecha, las que se van a ir reemplazando paulatinamente.

Las órdenes emitidas por el nuevo sistema se considerarán " Autorizadas por Auditoría OSPIA" y por lo tanto, no necesitarán el sello de autorización expresa ni firma de auditoría, salvo excepciones consideradas por la misma.

### GESTAR SALUD

Se informa que a partir del 21.08.2018 dejan de administrar la Obra Social OSPJTAP.

**POLICIA FEDERAL:** A partir del 13 de Agosto/18 abona arancel NBU \$ 27.50

### ACA SALUD - HÉRCULES:

A partir del 01.09.2018 abona arancel NBU \$ 27.30

### CAJA NOTARIAL:

A partir del 01.08.2018 abona arancel NBU \$27.60 ( Capital) y NBU \$ 28.97 ( Interior).

## VALIDACIONES NUEVO CONVENIO PAMI

Se informa que a partir del día 04/09/2017 se ha implementado el control de repetición de prácticas para prestaciones realizadas a beneficiarios PAMI, en cuyo caso al momento de la atención, al efectuar la validación podrá obtener las siguientes respuestas por código cargado:

"Práctica autorizada"; si la misma no ha sido validada en los últimos treinta días.

"Rechazada ya autorizada en el día"; "Ya autorizada en el mes, justificar reiteración"; si la práctica ha sido validada en los treinta días anteriores, pudiendo aparecer la matrícula del médico en caso de que se trate de un profesional distinto al que realizó el primer pedido. Ante esta situación para que la práctica no se debite en el momento de la liquidación, el médico (igual o diferente profesional) deberá justificar la reiteración del pedido de la práctica en la misma prescripción o dicha justificación deberá adjuntarse a la solicitud original.

## ENTREGA DE FACTURACIÓN PAMI

Todo pedido médico validado hasta el último día del mes debe ser presentado junto con la facturación de ese mismo mes, en caso contrario "será debitado".

## IMPORTANTE:

Se les recuerda a los Prestadores que en los cierres de facturación de cada mes deben entregar TODA LA FACTURACIÓN DE TODAS LAS MUTUALES y en el ÚLTIMO DÍA HÁBIL DE CADA MES ENTREGAR EL "REMANENTE DE PAMI Y SANCOR"

Las otras O. Sociales que sean entregadas ese día serán consideradas facturación del mes siguiente.

## NUEVOS BENEFICIOS PARA SOCIOS ABC:

Sr. Prestador:

- La Asociación de Bioquímicos , con el objetivo de beneficiar a nuestros asociados, ha sistematizado y puesto en marcha el adelanto de Obras Sociales con "fondos propios".
- Del 1 al 5 de cada mes se acreditará el equivalente al ochenta por ciento (80%) de lo facturado por cada profesional, sesenta días antes.
- En Proveeduría se mantienen las 3 cuotas sin interés para compras superiores a \$ 700 y 6 cuotas cuando supere los \$1.500.

## CIERRE DE FACTURACIÓN AÑO 2018

CIERRE DE PAMI Y SANCOR:  
ÚLTIMO DIA HÁBIL DE CADA MES

SEPTIEMBRE	24/09/2018
OCTUBRE	24/10/2018
NOVIEMBRE	22/11/2018
DICIEMBRE	21/12/2018

# Novedades

## LIQUIDACIÓN CONVENIO PAMI

Período: JUNIO de 2018  
 Total Ingresos Convenio: \$ 5.644.509,55  
 Incluye cápitras de capital e interior, de 1º y 3º nivel.  
 Total Presentado por los Bioquímicos \$ 26,661.939,80  
 Arancel aplicado para facturar y para liquidar: NBU, según tabla.  
 Porcentaje pagado: El 20.00 %. Sobre la liquidación Total, cancelando el 20.00% sobre las primeras 0 prácticas y el 20,00 % sobre las prácticas restantes.

ÍNDICE DE TABLAS	
Cantidad de Prácticas por Afiliado	NBU
1 - 4	20,4
5	20,4
6	20,4
7 - 9	17
10 o más	17

Valor Acto Bioquímico \$ 37,00

## LIQUIDACIÓN CONVENIO APROSS

Período: junio de 2018  
 Total de Unidades Presentadas por prácticas bioquímicas 823043.40 (NBU)  
 Total de Unidades Presentadas por actos bioquímicos 102921.00 (NBU)  
 Nomenclador aplicado para facturar y para liquidar: NBU  
 Índices Aplicados según tablas  
 Porcentaje pagado: 100 %

ÍNDICE DE TABLAS	
Cantidad de Prácticas por Afiliado	Valor Unidad Bioquímica
1- 6	\$ 19,05
7-9	\$ 18,80
10-13	\$ 17,94
14-18	\$ 16,60
19-23	\$ 15,05
Mas de 23	\$ 14,10
Plan Materno ( Valor Mínimo)	\$ 16,19
Acto Bioquímico	\$ 9,00

ÍNDICE DE COLUMNAS	
Calidad de las Prácticas	Índice
Alta frecuencia	100 %
Mediana frecuencia	90 %
Alta complejidad	100%



Agencia de Viajes y Turismo "Island Travel"  
 Descuentos especiales a socios. Te: 4229092 - 152356958

HOWARD JOHNNSON "LA CAÑADA"  
 Descuento del 20% sobre las tarifas. Mostrador vigentes hasta el 30 de Junio de 2019. 10% de descuento en cenas a la carta.

- Convenio con el grupo 525 - Hotel Buenos Aires
- Hotel Shelton - Hotel Impala
- Embajador Hotel  
<http://www.hotelselton.com.ar/>  
 Tarifa diferencial para socios de la ABC.
- Convenio con "Calamuchita Viajes" Tucumán 227 Córdoba - Descuento del 10% en la compra de todos los viajes.
- Convenio con "Deporbas" Gimnasios, Aqualife  
 Descuento del 15% y bonificación en inscripción anual.  
[www.deporbas.com.ar](http://www.deporbas.com.ar)

Convenio "Posada San Luis", Merlo (San Luis): 20% descuento en temporada baja. 10% descuento en temporada alta y fines de semana largos. No hay mínimo de noches para reservar.

Para más información comunicarse con Secretaría de la ABC.



## SOCIOS DE ABC

Les recordamos que continúa vigente el servicio de débito automático de **Tarjeta Naranja para los pagos mensuales de Cuota Social, Casa del Bioquímico, Seguro de Mala Praxis. Para compras en Proveeduría debe consultar por mail: [proveeduriaabc@fiber-tel.com.ar](mailto:proveeduriaabc@fiber-tel.com.ar) o al Tel.: 4257077.**

## Determinación de la mutación *flt3-itd* por dos métodos en pacientes con leucemia mieloblástica aguda: comparación e implementación de un nuevo método

### Autores:

1Delfina Sanchez,  
2Patricia Gargallo,  
3Vanessa Romano,  
4Verónica Montero,  
4Romina Cabrerizo

1Departamento Bioquímico,  
Hospital Aeronáutico Córdoba

2Laboratorio de Genética,  
Departamento de Análisis  
Clínicos, CEMIC

3Laboratorio de Virología,  
Departamento de Análisis  
Clínicos, CEMIC

4Laboratorio de Hematología,  
Departamento de Análisis  
Clínicos, CEMIC

Lugar de realización:  
Hospital Universitario CEMIC,  
Departamento de Análisis  
Clínicos.

Av. E. Galván 4102, CP  
C1431FWO  
CABA

### Correspondencia:

Delfina Sanchez  
Velez Sarsfield 840 4B, Córdoba  
delfinasanchez@live.com

### Palabras clave:

*FLT3-ITD, leucemia  
mieloblástica aguda, análisis  
de fragmentos.*

### Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico  
AF: análisis de fragmentos  
ELN: European Leukemia Network  
FAB: clasificación Franco-Americano-Británica  
FLT3 (FMS-like Tyrosine Kinase 3): receptor con actividad tirosin cinasa clase III  
FLT3-ITD: duplicación interna en tándem del gen FLT3  
FLT3-TKD: mutación en el dominio tirosin cinasa del gen FLT3  
GA: electroforesis en gel de agarosa  
ITD: duplicación interna en tándem  
LMA: leucemia mieloblástica aguda  
M: mediana  
MO: médula ósea  
M2: leucemia mieloblástica

aguda con maduración  
M4: leucemia mielo-monocítica aguda  
M5: leucemia monoblástica/monocítica aguda  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
PB: pares de bases  
PCR: reacción en cadena de la polimerasa  
PCR+AF: reacción en cadena de la polimerasa seguida de análisis de fragmentos  
PCR+GA: reacción en cadena de la polimerasa seguida de electroforesis en gel de agarosa  
RA: radio alélico  
RR: riesgo relativo  
SMD: síndrome mielodisplásico  
SP: sangre periférica  
TI: tamaño ITD  
TKD: dominio tirosin cinasa  
UV: ultravioleta  
WT: wild type

### Resumen

**Introducción:** La activación constitutiva del receptor FLT3 ocurre frecuentemente en leucemia mieloblástica aguda (LMA) debido a duplicaciones internas en tándem (ITD) en la región yuxtamembrana, o mutaciones puntuales en el dominio tirosin cinasa (TKD). Para ésta última los resultados no son concluyentes, pero la primera se asocia con pronóstico desfavorable, por lo que es fundamental contar con un buen método para detectarla.

**Objetivos:** comparar dos métodos para detectar FLT3-ITD, PCR+electroforesis en gel de agarosa (GA) y PCR+análisis de fragmentos (AF).

**Materiales y Métodos:** se estudiaron 66 pacientes con LMA para búsqueda de la mutación FLT3-ITD por ambos métodos.

**Resultados:** los datos obtenidos fueron correlacionados entre sí y con características clínicas. Hubo buena concordancia entre técnicas ( $k=0,85$ ). Se detectaron dos falsos negativos por PCR+GA, y un resultado indeterminado. Por PCR+AF el radio alélico encontrado fue de 0,05-7,7 ( $m=0,81$ ), y el tamaño ITD varió entre 16-174 ( $m=34$ ). La frecuencia de aparición de la mutación fue 20,6%,

predominando en pacientes con subtipo FAB M2. No hubo diferencias significativas en el recuento de leucocitos, neutrófilos, plaquetas, hemoglobina y blastos en sangre periférica entre pacientes portadores y no portadores de la mutación. La sobrevida global de los pacientes FLT3-ITD+ fue significativamente menor, con un riesgo relativo de muerte a los 6 meses de 1,45. **Conclusión:** la información brindada por el ensayo PCR+AF, sencillez, tiempo acotado de procesamiento y posibilidad de testear otros genes de interés simultáneamente, dan como resultado una valiosa técnica para redefinir pronóstico y riesgo de la enfermedad, factiblemente implementable en el laboratorio.

**PALABRAS CLAVE:** FLT3-ITD, leucemia mieloblástica aguda, análisis de fragmentos.

DETERMINATION OF FLT3-ITD MUTATION IN PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA BY TWO METHODS: COMPARISON AND IMPLEMENTATION OF A NEW METHOD

## Abstract

**Background:** The constitutive activation of FLT3 receptor occur with high frequency in acute myeloid leukemia (AML) patients by two mutations: internal tandem duplications (ITD) in or near the juxtamembrane domain of the receptor, and point mutations occurring in the tyrosin kinase domain (TKD). Studies about FLT3-TKD mutations are not conclusive, but FLT3-ITD mutations portends poor prognosis, that is why it is needed a proper method for it detection.

**Objectives:** Compare two methods to detect FLT3-ITD, PCR + agarose gel electrophoresis (GA) and PCR + fragments analysis (AF).

**Materials and Methods:** We studied 66 patients with AML to search for FLT3-ITD mutation by both methods.

**Results:** the data obtained were correlated with each other and with clinical characteristics. There was good agreement between techniques ( $k = 0.85$ ). Two false negatives were detected by PCR + GA, and an indeterminate result. By PCR + AF, the allelic ratio found was 0.05-7.7 ( $m = 0.81$ ), and the ITD size ranged from 16-174 ( $m = 34$ ). The frequency of occurrence of the mutation was 20.6%, predominating in patients with FAB M2 subtype. There were no significant differences in the count of leukocytes, neutrophils, platelets, hemoglobin and blasts in peripheral blood between patients carrying and not carrying the mutation. The overall survival of FLT3-ITD+ patients was significantly lower, with a relative risk of death at 6 months of 1.45.

**Conclusion:** the information provided by the PCR + AF assay, simplicity, limited processing time and the possibility of testing other genes of interest simultaneously, results in a valuable technique to redefine the prognosis and risk of the disease, which can be feasibly implemented in the laboratory.

**KEY WORDS:** FLT3-ITD, acute myeloblastic leukemia, fragment analysis.

## Introducción

La leucemia mieloblástica aguda (LMA) es una proliferación neoplásica de células inmaduras de estirpe mieloide, desencadenada por una variedad de mutaciones y eventos epigenéticos que conducen a una proliferación descontrolada, con disrupción en la diferenciación, pérdida de la apoptosis y supresión de la hematopoyesis normal. El desenlace es típicamente fatal, caracterizado por la falta de células sanguíneas maduras y consecuentes infecciones y/o hemorragias. Es una enfermedad clínica y genéticamente heterogénea. El diagnóstico se basa en los criterios de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) revisada en 2016, que tiene en cuenta datos morfológicos, citogenéticos, inmunofenotípicos y moleculares (1). El estudio citogenético permite además definir el pronóstico de los pacientes, agrupándolos en categorías de riesgo favorable, intermedio o adverso. Sin embargo el 40-50% de las LMA presentan cariotipo normal al diagnóstico, lo que hace difícil asociar y descifrar su evolución, ya que presentan cursos clínicos consider-

ablemente diferentes (2-3). Adicionalmente al estudio del cariotipo convencional, es necesario realizar diagnóstico molecular, estudiando lesiones submicroscópicas, cuya presencia se ha descrito que podría conferir distintos subgrupos pronósticos y proporcionar información en cuanto a las implicancias clínicas. Esto incluye principalmente, mutaciones en el gen FMS like tyrosine kinase 3 (FLT3) (4-7).

FLT3 es un gen que codifica para un receptor miembro de la familia tirosin cinasa clase III. Se encuentra en el cromosoma 13q12.2. Normalmente es expresado por las células progenitoras hematopoyéticas y dicha expresión se pierde conforme éstas se diferencian. FLT3 tiene un rol importante en la supervivencia, diferenciación y proliferación celular (8). Su ligando, FLT3-ligando, produce expansión sinérgica de las células progenitoras hematopoyéticas cuando se combina con otros factores de crecimiento in vitro, como trombopoyetina, interleuquina-3 y ligando KIT.

Las mutaciones en el gen FLT3 son una de las alteraciones somáticas genéticas más frecuentes en LMA (9). Se han identificado dos tipos de mutaciones: la duplicación interna en tándem (FLT3-ITD) de 3 – 400 pares de bases (pb) en la región juxtamembrana, identificada en aproximadamente el 25% de las LMA y mutaciones puntuales que generalmente involucran el ácido aspártico 835 del dominio cinasa (FLT3-TKD), identificadas en el 10% de las LMA (10-11). Ambos tipos de mutaciones activan constitutivamente el receptor en ausencia de ligando, con la consecuente inducción de crecimiento celular e inhibición de la apoptosis a través de la activación de una cascada de señalización de diversas proteínas (12-13). Muchos estudios han demostrado que la presencia de la mutación FLT3-ITD tendría un rol patogénico y que conferiría peor pronóstico en pacientes con LMA (13-15). Contrariamente, los pacientes con mutaciones puntuales FLT3-TKD no parecen tener el mismo pronóstico adverso, aunque los estudios no son concluyentes (16-18). Estos hallazgos sobre FLT3, hacen que sea un blanco molecular atractivo para el desarrollo de nuevas terapias destinadas a inhibir su actividad descontrolada de tirosina cinasa.

La variable respuesta a la terapia que presentan las LMA y la sustancial diferencia existente en el desenlace clínico de la enfermedad en los pacientes que portan o no la mutación FLT3-ITD, ha motivado la búsqueda de más factores pronósticos, además del citogenético. De esta forma, la European Leukemia Network (ELN) desarrolló un sistema pronóstico que tiene en cuenta la identificación de determinadas alteraciones moleculares, entre ellas, FLT3-ITD, permitiendo una redefinición del riesgo. En base a esto, la ELN subdividió al grupo intermedio en intermedio I y II (tabla I) (19).

El abordaje más comúnmente usado para realizar rastreo de FLT3-ITD, consiste en realizar una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) seguida de electroforesis en gel de agarosa. Si bien es un método ampliamente utilizado, relativamente económico y sencillo de llevar a cabo, presenta varias limitaciones dependiendo de la concentración de agarosa utilizada en el gel y el número de pares

de bases insertados.

Una alternativa metodológica de mayor sensibilidad, rapidez y practicidad se obtiene analizando los productos amplificados mediante análisis de fragmentos en secuenciador por electroforesis capilar; técnica que permite separar diferentes moléculas presentes en una disolución según su relación masa/carga, donde los analitos de interés transitan por un polímero de alta resolución que permite separarlos. Al pasar por un detector de fluorescencia, se identifican individualmente las moléculas separadas. En este procedimiento se efectúa la reacción de PCR con uno de los primers marcados con un fluorocromo (FAM). Es una técnica más robusta en lo que respecta a parámetros analíticos, de la cual puede obtenerse valiosa información adicional, como el tamaño ITD y relaciones alélicas, entre otros datos (16,20-21).

Varios estudios han examinado el impacto del tamaño ITD (TI) en el gen mutado en lo que respecta al desenlace clínico. El tamaño medio reportado en la mayoría de estudios va desde 39 a 54 pb, y se ha encontrado que a mayor número de pares de bases insertadas, es menor el porcentaje de remisión y peor la sobrevida general (6,16,22). Un reciente estudio asocia longitud de fragmento > 70pb como peor pronóstico (23).

En cuanto a las relaciones alélicas (RA) (alelos que portan la mutación / alelo normal o wild-type (WT)), estudios previos han sugerido un rol pronóstico también a este nivel; una asociación entre una alta carga alélica, considerado RA > 0,50 y a veces pérdida del alelo WT, con un pronóstico desfavorable. En contraste, el impacto pronóstico de un RA bajo o intermedio es controvertido, incluso parece no diferir de aquellos sin aberraciones en FLT3 (22,24-25).

En este estudio se comparan dos métodos de detección de la mutación FLT3-ITD: PCR seguida de electroforesis en gel de agarosa (PCR+GA) versus PCR seguida de análisis de fragmentos (PCR+AF); se evalúa la información adicional brindada por la nueva metodología y se correlaciona el estado mutacional del gen FLT3 con múltiples variables. También se discuten estrategias de diseño del ensayo, su puesta a punto y nuestra experiencia con la aplicación clínica del método.

### **Materiales y Métodos**

Se realizó un estudio retrospectivo de 66 pacientes diagnosticados con LMA primarias (de novo) y secundarias, en el servicio de Hematología de CEMIC, Buenos Aires, Argentina. Para ello, se aisló el ADN de muestras de médula ósea (MO) y/o sangre periférica (SP) al momento de la presentación (n=57), y otras al momento de la recaída (n=9). La extracción del material genético fue realizada mediante el método automatizado MagNAPure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I® y MagNAPure Compact Instrument®, utilizando el principio de separación de lisis celular y la unión de los ácidos nucleicos a partículas magnetizadas. Los extractos fueron conservados en freezer a -20°C hasta su procesamiento. El ADN de cada muestra fue amplificado por PCR en Termociclador Verita, Applied Biosystem®, utilizando los primers especificados en la tabla II, uno de ellos marcado

con fluorocromo FAM, que permiten amplificar directamente los exones 14 y 15 del gen FLT3. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: Buffer con MgCl<sub>2</sub> 5x (Cf 1x), 1.0 μM de dNTP mix (Cf 0.4 mM), 2.0 μL de cada primer 5 μM (Cf 0.4 μM), 0.25 μL Taq polimerasa (5 U), 2.0 μL de ADN (Cf 50-100 nG) y 12.75 μL de agua libre de nucleasas, dando un volumen final de reacción de 25 μL. Cada ensayo incluyó control positivo, control negativo y blanco de reacción.

Las condiciones de ciclos fueron: desnaturalización a 94°C por 2 minutos (min), 30 ciclos de 94°C por 1 min, 60°C por 1 min, 68°C por 1 min, con una extensión final a 68°C por 5 min.

Los productos de PCR fueron detectados por ambas metodologías: electroforesis en gel de agarosa al 4% teñido con Bromuro de Etidio y visualización en transiluminador UV, empleando un marcador de peso molecular de ADN de 50 pb (CincuentaMarker, Biodynamics®), y paralelamente por análisis de fragmentos y detección por fluorescencia en analizador genético ABI 310®, en un ensayo basado en electroforesis capilar. Para este caso, las muestras fueron analizadas con el software ABI GeneScan y empleando un marcador de peso molecular, ROX (35-500 pb), se calcularon los tamaños de los fragmentos.

### **Análisis estadísticos**

Se utilizó el estadístico t para comparar medias poblacionales entre variables cuantitativas. Para variables cualitativas se utilizó el test exacto de Fischer, e índice kappa de Cohen para evaluar concordancia. Los análisis estadísticos fueron realizados con el software InfoStat, versión 2012e, e InStat, respectivamente. La significancia estadística se definió como p < 0,05.

### **Ensayo de sensibilidad**

Se realizaron ensayos de sensibilidad para cada metodología a fin de evaluar este parámetro analítico. Se diseñó tomando como referencia el estudio de Qing Zhang et al. (20). Partiendo de dos muestras con igual concentración de ADN (40ng/ul), un control negativo y un control positivo para FLT3-ITD (100% clon mutado), se prepararon diluciones seriadas que luego fueron amplificadas y analizadas por ambas metodologías y por duplicado. Las diluciones ensayadas se detallan en la tabla III.

Se muestran los resultados obtenidos de los ensayos de sensibilidad por PCR+GA (figura 1) y PCR+AF (figura 2). Ambos ensayos fueron semejantes en cuanto a sensibilidad, ya que en ambos se detectaron todos los puntos realizados. Con esto podemos asegurar que se puede detectar con certeza hasta un 10% del clon mutante, ya sea por electroforesis en gel de agarosa o análisis de fragmentos, respetando estrictamente las condiciones de reacción descriptas para cada metodología. Proponemos para futuros estudios realizar un ensayo de sensibilidad evaluando diluciones más grandes y también con concentraciones menores de ADN, de manera tal que se determine el límite de detección de cada metodología.

### **Resultados**

El producto de PCR obtenido es un fragmento de 329 pb y

corresponde al alelo normal. Cuando se está en presencia de la mutación FLT3-ITD, se observa otro producto de mayor tamaño que se visualiza en el gel de agarosa como una banda adicional, además de la que corresponde al alelo normal, mientras que por análisis de fragmentos las señales se manifiestan como picos.

Se procesaron las muestras de ADN de los 66 pacientes en estudio; 3 de ellas no amplificaron, situación atribuible a ADN degradado, por lo que no pudieron ser evaluadas. Las 63 muestras restantes, fueron analizadas por PCR+GA y por PCR+AF para la búsqueda de la mutación FLT3-ITD. Comparando ambas metodologías, se halló que hubo buena concordancia entre ellas ( $k=0,85$ ); de los 63 pacientes, 49 pacientes fueron negativos para la mutación por ambos métodos, mientras que en 11 se detectó la mutación. Sin embargo, se obtuvieron 3 resultados discordantes entre las metodologías; en 2 casos no se detectó la mutación mediante revelado en gel de agarosa, mientras que otro caso fue considerado dudoso para la presencia de la mutación por este método, siendo que al procesar la muestra por PCR+AF, se vio que no portaba la mutación. Es decir, que se encontraron 2 falsos negativos por el método de PCR+GA, como así también, 1 resultado dudoso/indeterminado por dicha metodología (tabla IV). Se cotejaron los pacientes que fueron discordantes para inferir sobre las causas de la detección de la mutación por un método, y no por el otro, y se obtuvo la información expresada en la tabla V.

En el primer caso, el paciente #247 presentó por PCR+AF, además de su alelo WT, un alelo mutado, cuyo clon es muy pequeño, según la información brindada por esta metodología (figura 3). Deducimos que ésta es la causa probable por la cual no se vio la banda correspondiente al alelo mutante al analizarla por PCR+GA, ya que es una técnica menos sensible (figura 4). El paciente #128 al ser evaluado por PCR+AF, reveló la presencia de dos mutaciones FLT3-ITD diferentes además de su alelo WT (figura 4). Ninguna de ellas fueron detectadas por PCR+GA (figura 6). Para el paciente #135, cuando se lo evaluó por PCR+GA se lo consideró dudoso o indeterminado ya que presentó una banda de mayor peso con mucha suciedad (ruido) de fondo que se creyó podría tratarse de un alelo mutado (figura 7). Sin embargo, PCR+AF manifestó solo la existencia del fragmento correspondiente al alelo WT (figura 5).

En lo que concierne a los pacientes que coincidentemente fueron detectados por ambas metodologías como portadores de la mutación FLT3-ITD, se obtuvo mucha más información con la evaluación realizada mediante análisis de fragmentos. Ejemplos de esto, son detalles como los tamaños ITD (TI) que ocurren en la mutación, ya que mediante esta metodología podrían detectarse inserciones de 1 pb. La presencia de multiclonalidad, como fue un caso en que la muestra fue positiva para la mutación, que si bien fue detectada por ambos métodos, por PCR+AF se halló la presencia de tres señales, una correspondiente al alelo WT y las restantes a dos mutaciones FLT3-ITD diferentes; en el gel de agarosa solo se vio la presencia de dos bandas, no detectándose este tercer clon. Información muy relevante también puede

extraerse del área y altura de los picos que se obtienen como señal. La altura da indicios de la intensidad de la señal, mientras que con respecto al área de los picos, la literatura propone que se realice la relación del área del alelo mutado respecto de la del WT. Los radios alélicos obtenidos darían información sobre el tamaño del clon mutante presente en el paciente.

En nuestra población estudiada, la frecuencia de aparición de la mutación FLT3-ITD fue de 20,6%, correlacionándose con lo mencionado en la literatura. La misma tendencia de aparición de la mutación fue encontrada en los pacientes con LMA primarias y LMA secundarias (20 y 25% respectivamente). La mediana para los RA calculados en estos pacientes fue de 0,81 (0,05-7,7), y para los TI fue de 34 pb (16-174).

La sobrevida global de los pacientes FLT3-ITD+ fue marcadamente menor, con un riesgo relativo de muerte (RR) antes de los 6 meses de 1.45 (Figura 8). Al correlacionar la sobrevida global de los pacientes FLT3-ITD+ con el RA y TI, se vio heterogeneidad en los resultados sin ninguna tendencia ni valor de corte asociado, esto podría explicarse por el bajo n total, bajo n en los subgrupos evaluados (RA > 0.50 y TI > 70) y la presencia de cariotipos alterados y/o complejos, asociados a la mutación (Figura 9 y 10).

En cuanto a las características hematológicas que presentaban los pacientes, se compararon los recuentos en SP de leucocitos, plaquetas, hemoglobina, porcentaje de neutrófilos y de blastos en la población que presentó la mutación FLT3-ITD, versus la que fue negativa para la mutación; el recuento medio de leucocitos y blastos en SP fue mayor en el grupo portador de la mutación respecto del WT y menor para los parámetros hemoglobina, plaquetas y porcentaje de neutrófilos. A pesar de estas diferencias a priori, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de estos parámetros (tabla VI). Se muestran también los subtipos FAB encontrados, siendo mayoritario el subtipo M2, tanto en el total general de pacientes estudiados como en los portadores de la mutación. No obstante, la bibliografía refiere que la presencia de la mutación FLT3-ITD se asocia principalmente a linaje monocítico (M4 y M5) (18,24).

Como ya fue mencionado, la mutación FLT3-ITD ha sido sugerida como un "hit" en el proceso de leucemogénesis, ya que ha sido vista en pacientes con síndrome mielodisplásico (SMD) al evolucionar éstos a leucemia aguda (10-11,13,17). Ha sido reportado también que el estado mutacional del gen FLT3 puede cambiar al momento de la recaída de la LMA, positivizarse o negativizarse, o bien, que el RA que presente un paciente al momento de la recaída difiera del encontrado al diagnóstico en un paciente portador de la mutación (15). Es por ello que se decidió evaluar en nuestra población el estado mutacional de FLT3 en pacientes al momento del diagnóstico y recaída, en 6 pacientes en que se contaba con dicha información. De este grupo de pacientes, 1 presentaba mutación tanto al diagnóstico como a la recaída, presentando el mismo clon mutante y al comparar los RA a los distintos momentos, se vio que en la etapa de la recaída fue menor; de todas maneras, tanto al diagnóstico

como a la recaída el RA superaba 0,5, que como fue mencionado antes, sería un factor de mal pronóstico. En 2 pacientes se halló que adquirieron la mutación al momento de la recaída. En los restantes 3 pacientes, no se detectó mutación del gen ni al diagnóstico y tampoco en la recaída. La supervivencia de los pacientes FLT3-ITD+ tanto al diagnóstico como a la recaída, fue significativamente menor que los FLT3-ITD- (Tabla VII).

### Discusión y conclusión

La LMA, a pesar del desarrollo creciente de fármacos dirigidos a blancos moleculares específicos, sigue teniendo alta tasa de morbilidad y mortalidad relacionada a la toxicidad farmacológica y a las tempranas recaídas. Los diferentes índices pronósticos, ayudan a identificar pacientes con alto riesgo de recaída y enfermedad resistente. Las mutaciones de tipo ITD en el gen FLT3 han sido asociadas con mal pronóstico y han adquirido un importante rol en la toma de decisiones sobre tratamiento. Es por ello que la detección temprana de la misma, así como su correcta determinación por una técnica adecuada, beneficiaría al paciente.

En este trabajo demostramos fortalezas y debilidades de dos métodos que actualmente se utilizan para la detección de FLT3-ITD, los comparamos tomando como información verdadera la aportada por análisis de fragmentos<sup>2</sup> y justificamos que la PCR+AF para mutaciones en FLT3 ha mostrado ser un método rápido y sensible, que emplea cantidades mínimas de muestra y a diferencia de PCR+GA, es un procedimiento menos laborioso y no requiere la manipulación de reactivos tóxicos.

A pesar de los costos la técnica análisis de fragmentos, a través de la automatización, permite estandarizar los ensayos, por lo que sería de gran utilidad su implementación masiva. Cabe destacar que esta técnica permite una fácil interpretación de los datos, así como el manejo de los mismos, situación contrapuesta con respecto a la PCR+GA, ya que la interpretación de los datos depende de muchos factores tales como la concentración de agarosa utilizada en el gel y la ejecución de la corrida electroforética para una correcta resolución de la misma, la visualización de las bandas, hecho controvertido porque depende de los pares de bases insertados en el fragmento amplificado, el tamaño del clon, así como de la agudeza visual del operador.

Consideramos que la implementación de la técnica de PCR+AF es un ensayo que, basado en la capacidad de discriminar fragmentos de 1 pb de diferencia marcados con fluorocromo, aportando datos tan valiosos como son los RA y permitiendo la detección de sutiles mutaciones indetectables a través de la convencional electroforesis en gel de agarosa, es un ensayo sensible, rápido, altamente reproducible y sujeto a automatización, que es capaz de sustituir la PCR+GA; de esta manera es posible realizar un aporte inequívoco desde el laboratorio a la categorización del paciente, para la futura evaluación e implementación de la terapéutica adecuada.

No es menor destacar que, contando con una técnica como análisis de fragmentos es posible testear otros genes de interés en los pacientes con LMA y evaluarlos simultáneamente (20-21,26), tornándola una técnica mucho más atractiva, acortando tiempos, algo tan crítico ante un paciente con este tipo de patología.

### Tablas y figuras

**Tabla I:**

**Clasificación de la European Leukemia Network de los pacientes con LMA en grupos pronóstico, según citogenético y perfil molecular.**

Riesgo Favorable	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) o t(16;16)(p13.1;q22); CBFβ-MYH11 Cariotipo normal y mutación de NPM1 sin DIT-FLT3 Cariotipo normal y mutación de CEBPA
Riesgo Intermedio-I	Cariotipo normal y mutación de NPM1 con DIT-FLT3 Cariotipo normal sin mutación de NPM1 con DIT-FLT3 Cariotipo normal sin mutación de NPM1 ni DIT-FLT3
Riesgo Intermedio-II	t(9;11)(p22;q23); MLLT3.MLL Otras alteraciones citogenéticas no catalogadas en el grupo de riesgo favorable o desfavorable
Riesgo Adverso	inv(3)(q21q26.2) o t(3;3)(q21;q26.2); RPN1-EV11 t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23); reordenamiento MLL -5 o del(5q); -7; abn(17p); cariotipo complejo

**Tabla II:  
Primers utilizados para la amplificación de  
FLT3-ITD**

FLT-ITD	
Foward FLT3-ITD Fluo	5' - FAM-GCA ATT TAG GTA TGA AAG CCA GC - 3'
Reverse FLT3-ITD	5' - CTT TCA GCA TTT TGA CCG CAA CC - 3'

**Tabla III: Diluciones realizadas para el ensayo  
de sensibilidad.**

Dilución	Clon mutante (%)	Mezcla (CN:CP)
1	50	50:50
2	40	60:40
3	30	70:30
4	20	80:20
5	10	90:10

CN: control negativo; CP: control positivo.

**Tabla IV: Tabla de contingencia.**

	PCR + Análisis de fragmentos		Total
	FLT3-ITD +	FLT3-ITD -	
PCR + Electroforesis en gel de agarosa			
FLT3-ITD +	11	1 (dudoso)	12
FLT3-ITD -	2	49	51
Total	13	50	63

**Tabla V: Pacientes discordantes entre  
metodologías.**

Paciente	Metodología	Observaciones
#247	PCR + AF	2 señales, alelo WT y alelo mutado TI=17 pb; RA=0,05
	PCR + GA	Única banda correspondiente al alelo WT
#128	PCR + AF	3 señales, alelo WT y 2 clones mutados TI=20 y 28 pb; RA=0,63
	PCR + GA	Única banda correspondiente al alelo WT
#135	PCR + AF	Señal única correspondiente al alelo WT
	PCR + GA	Banda correspondiente al alelo WT y mucha suciedad, se consideró dudoso o indeterminado (corrida realizada por duplicado)

PCR + AF, PCR seguida de análisis de fragmentos; PCR + GA, PCR seguida de electroforesis en gel de agarosa; RA, radio alélico; TI, tamaño ITD; WT, wild-type.

**Tabla VI: Características clínicas y hematológicas de la población estudiada.**

Parámetros	Totales (N=63)	FLT3-ITD+ (N=13)	FLT3-ITD-(N=50)
Edad mediana (rango)	61 (25-92)	55 (40-92)	63 (25-89)
Sexo (M-F)	37;26	10;3	27;23
<b>Tipo de leucemia</b>			
De novo (%)	87	20	80
Secundaria (%)	13	25	75
<b>FAB</b>			
M0	2	0	2
M1	10	3	7
M2	17	5	12
M3	5	1	4
M4	6	2	4
M5	7	0	7
M6	5	0	5
Bifenotípicas	2	0	2
No evaluable	9	2	7
<b>Recuento en SP</b>			
WBC/mm <sup>3</sup> mediana (rango)	8120 (640-358370)	10295 (1190-177620)	8120 (640-358370)
% Ne mediana (rango)	11 (0-59)	10,5 (0,4-53)	11 (0-59)
% Bl en SP mediana y (rango)	40 (0-96)	67 (10-96)	40 (0-95)
Hg g/dl mediana (rango)	8,4 (5,3-13,2)	7,6 (6,1-12,1)	8,65 (5,3-13,2)
PLT/mm <sup>3</sup> mediana (rango)	34500 (1400-675000)	20500 (3000-212000)	35500 (1400-675000)
<b>Parámetros AF</b>			
TI mediana (rango)		34 (16-174)	
RA mediana (rango)		0,81 (0,05-7,7)	

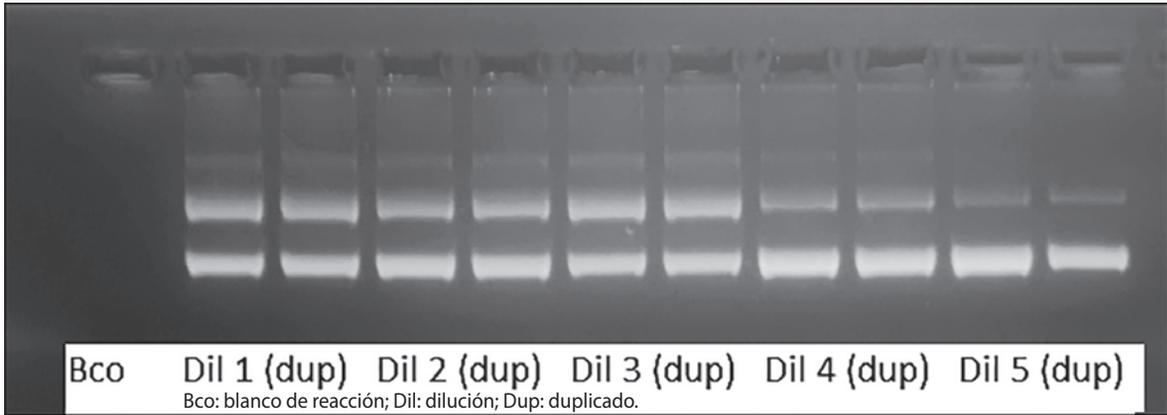
AF, análisis de fragmentos; Bl, blastos; F, femenino; FAB, clasificación Franco-Americano-Británica; Hb, hemoglobina; L, leucocitos; M, masculino; Ne, neutrófilos; PLT, plaquetas; RA, radio alélico; SP, sangre periférica; TI, tamaño ITD.

**Tabla VII: Estado mutacional de FLT3 al momento del diagnóstico y recaída.**

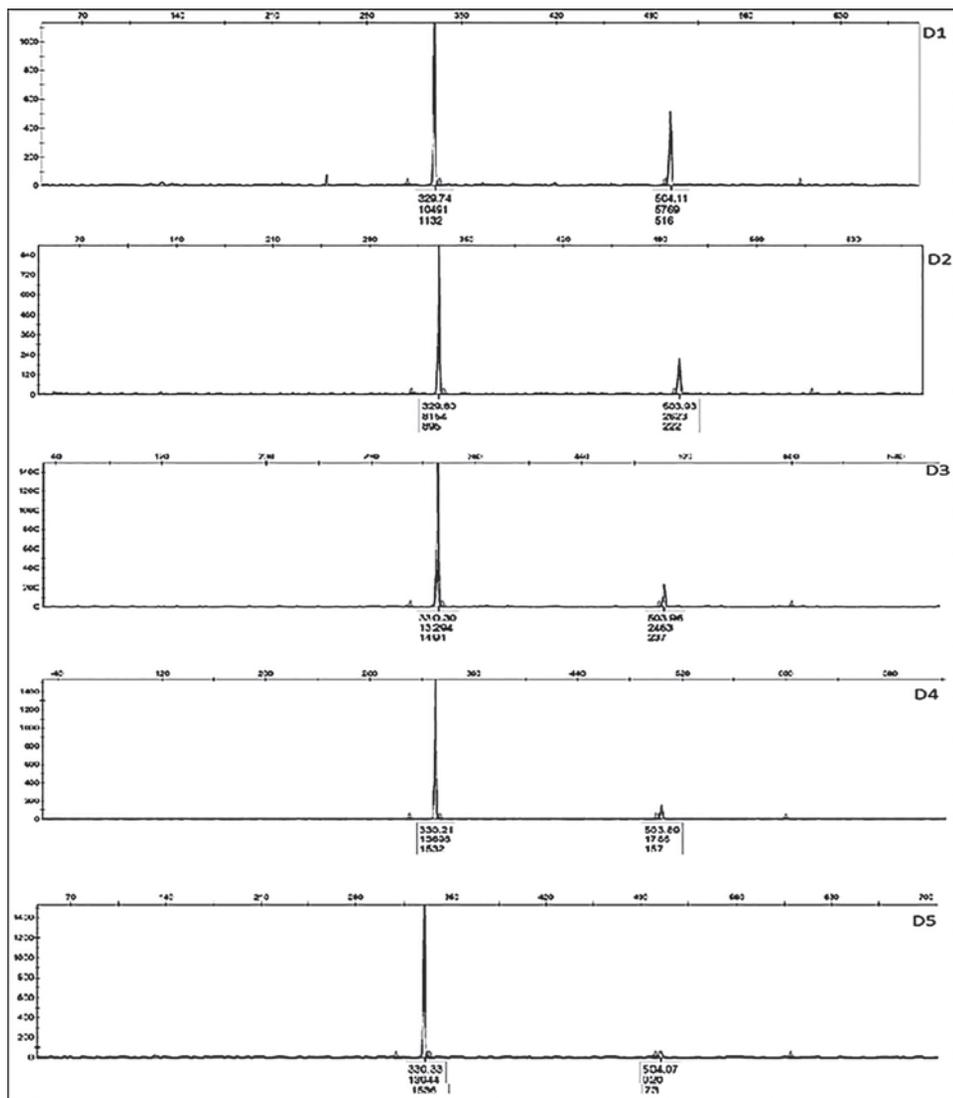
Nº Paciente	Estado mutacional FLT3-ITD				Sobrevida (meses)
	D	R	TI (D y R)	RA (D y R)	
1	M	M	60 - 60	1,65 - 1,53	4,90
2	NM	NM	-	-	22,77
3	NM	NM	-	-	12,77
4	NM	M	174	7,7	6,22
5	NM	M	33	0,86	0,93
6	NM	NM	-	-	23,53

D, diagnóstico; M, mutado; NM, no mutado; R, recaída; RA, radio alélico; TI, tamaño ITD.

**Figura 1: Ensayo de sensibilidad para PCR seguida de electroforesis en gel de agarosa.**



**Figura 2: Ensayo de sensibilidad para PCR seguida análisis de fragmentos.**



D: dilución.

Figura 3: paciente #247 analizado por PCR + AF.

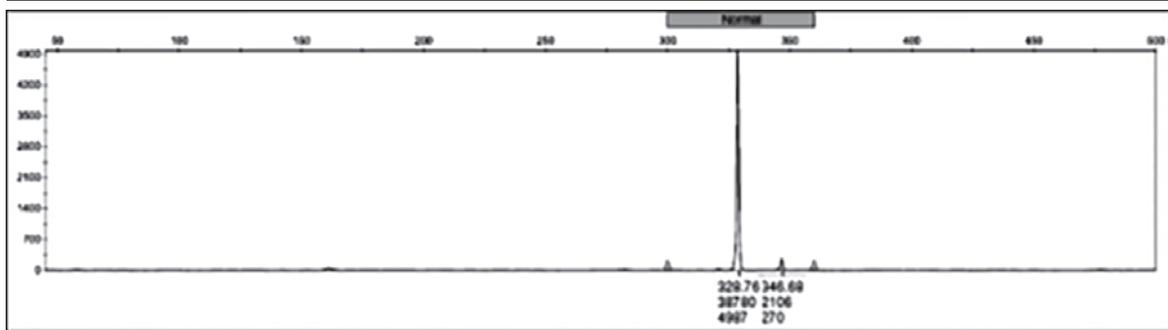


Figura 4: paciente #128 analizado por PCR + AF.

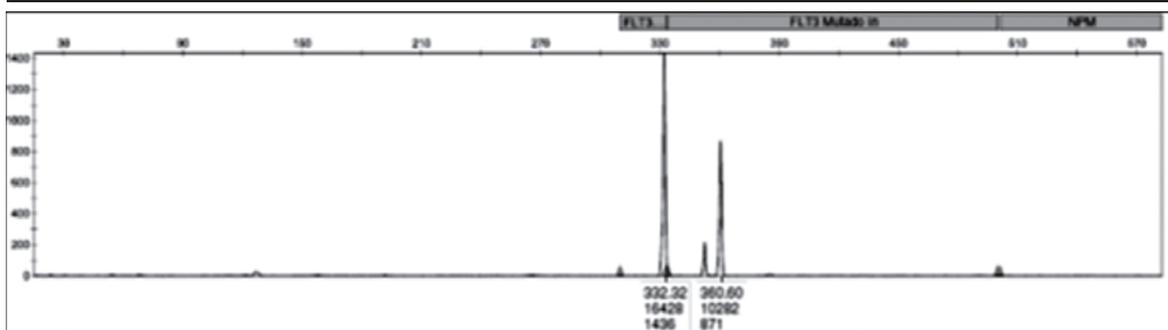
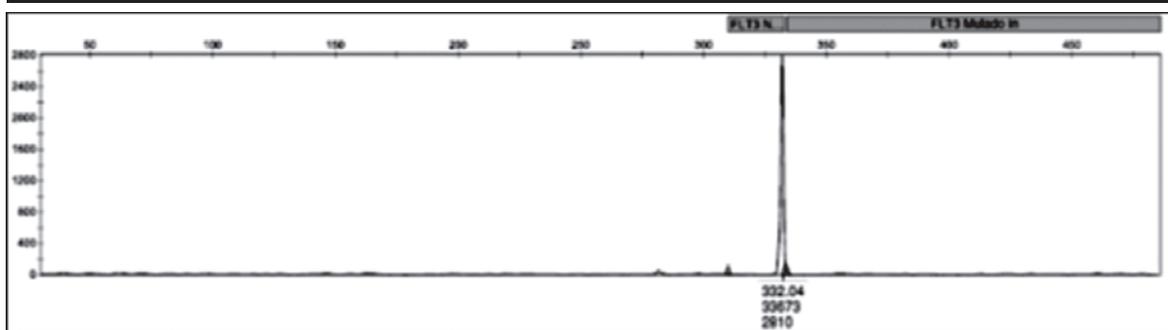
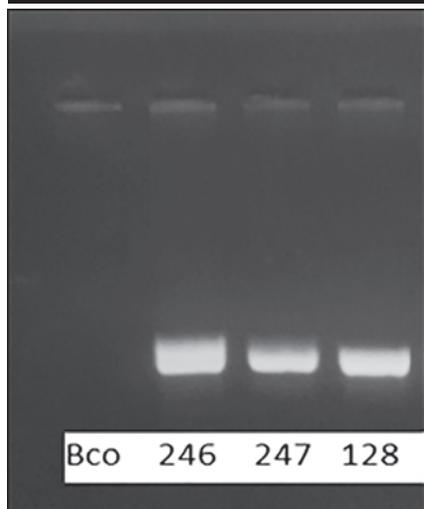


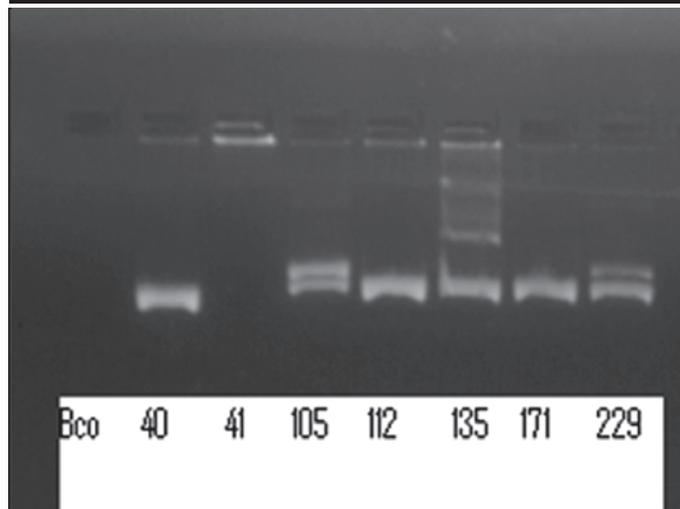
Figura 5: paciente #135 analizado por PCR + AF.



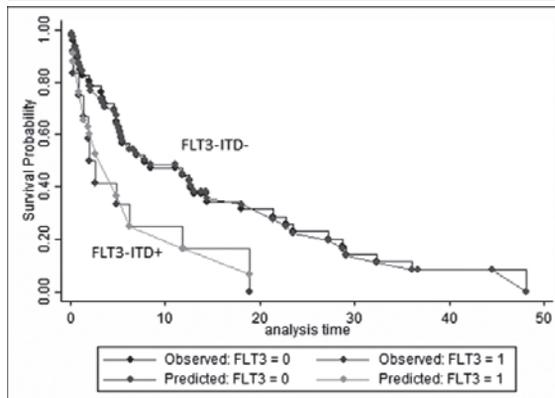
**Figura 6: pacientes #247 y #128 analizados por PCR + GA.**



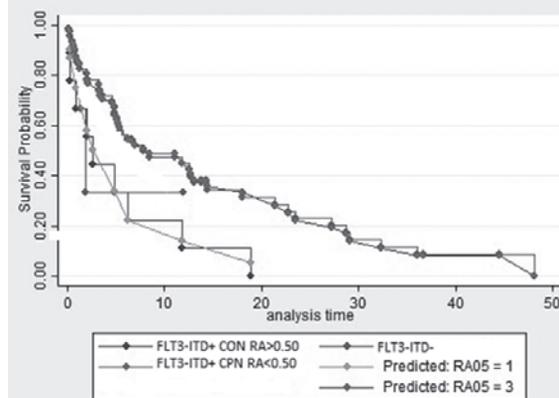
**Figura 7: paciente #135 analizado por PCR + GA**



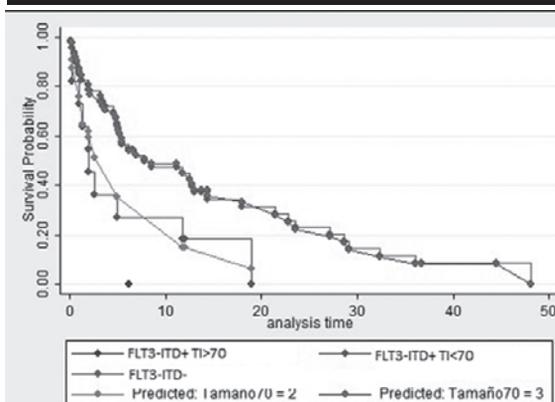
**Figura 8: Sobrevida global de pacientes FLT3-ITD+ y FLT3-ITD-.**



**Figura 9: Sobrevida global vs RA**

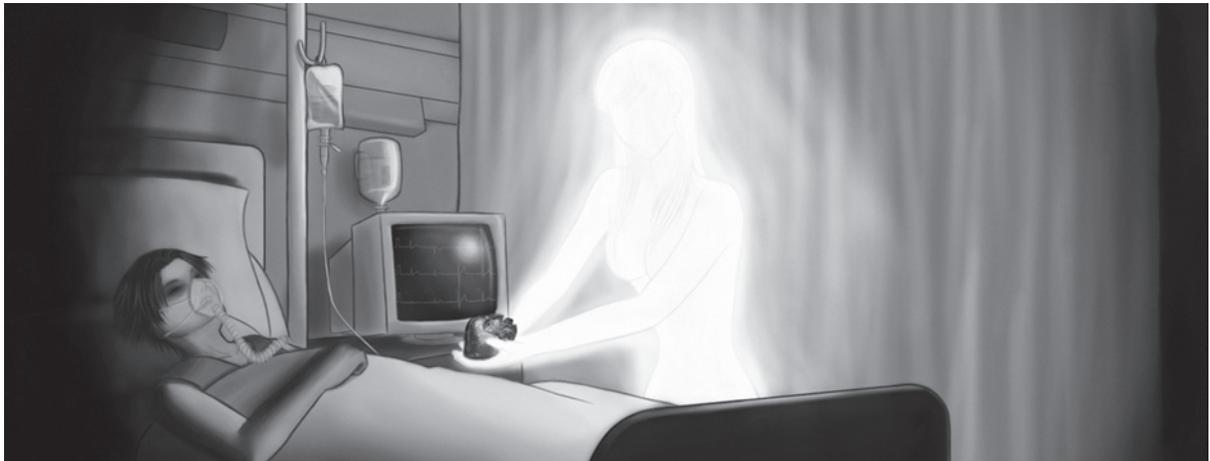


**Figura 10: Sobrevida global vs TI**



**Referencias bibliográficas**

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127:2391-2406.
2. Gulley M, Shea T, Fedoriw Y. Genetic Tests To Evaluate Prognosis and Predict Therapeutic Response in Acute Myeloid Leukemia. *J. Mol. Diagnostics*. 2010;12: 3–16.
3. Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, et al. Mutations and Treatment Outcome in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2008;358:1909–1918.
4. Estey E, Tefferi A. Information CME. CME Information: Acute myeloid leukemia: 2014 update on. *Am J Hematol*. 2014;89:1063-1081.
5. Sierra J. La genética como guía del manejo de la leucemia mieloide aguda. *Hematología*. 2015;19: 81–86.
6. Gaidzik V, Döhner K. Prognostic Implications of Gene Mutations in Acute Myeloid Leukemia With Normal Cytogenetics. *Semin Oncol*. 2008;35:346-355.
7. Port M, Böttcher M, Thol F, Ganser A, Schlenk R. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication, nucleophosmin 1, and CEBPA gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and younger than 60 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2014;93:1279-1286.
8. Hamosh A. (2014). OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man. Baltimore: Johns Hopkins University. Recuperado de <https://www.omim.org>
9. Jaffe ES, Lee Harris N, Stein H, et al., eds. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. World Heal Organ. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2008.
10. Gary Gilliland D, Griffin J. D. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood* . 2002;100:1532–1542.
11. Stirewalt D, Radich J. P. THE ROLE OF FLT3 IN HAEMATOPOIETIC MALIGNANCIES. *Nature*. 2003;3: 650–663.
12. Hayakawa F, Towatari M, Kiyoi H, et al. Tandem-duplicated FLT3 constitutively activates STAT5 and MAP kinase and introduces autonomous cell growth in IL-3-dependent cell lines. *Oncogene*. 2000;19:624-631.
13. Small D. FLT3 Mutations: Biology and Treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;1:178-184.
14. Bochtler T, Fröhling S, Weichert S, et al. Evolution of a FLT3-TKD mutated subclone at meningeal relapse in acute promyelocytic leukemia. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. 2016;2:1-11.
15. McCormick S, McCormick M, Grutkoski P, et al. FLT3 Mutations at Diagnosis and Relapse in Acute Myeloid Leukemia. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2010;134:1143–1151.
16. Levis M. FLT3 mutations in acute myeloid leukemia: what is the best approach in 2013? *Am Soc Hematol*. 2013;1:220-226.
17. Cuervo-sierra J, Jaime-pérez JC, Gómez-Almaguer D. Mutaciones del módulo FLT3 en leucemia aguda mieloblástica. *Rev Hematol*. 2012;13:177-184.
18. Gaich P, Sastre D, Rodríguez C. Prevalencia de mutaciones FLT3 en leucemias mieloblásticas agudas. Laboratorio de Oncohematología, Hospital Nacional de Clínicas-Facultad de Ciencias Médicas- Universidad Nacional de Córdoba (Argentina). Publicado en Primer Congreso Bioquímico de Córdoba 2011.
19. Estey E, Amadori S, Appelbaum F, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel , on behalf of the European Leukemia Net. *Blood*. 2010;115: 453–475.
20. Zhang Q, Bai S, Vance G. Molecular genetic test for FLT3, NPM1, and CEPBA in Acute Myeloid Leukemia. *Hematological Malignancie*. 2013;999:105–121.
21. Noguera N, Ammatuna E, Zangrilli D, et al. Simultaneous detection of NPM1 and FLT3-ITD mutations by capillary electrophoresis in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2005;19:1479–1482.
22. Schlenk R, Kayser S, Bullinger L, et al. Differential impact of allelic ratio and insertion site in FLT3 -ITD – positive AML with respect to allogeneic transplantation. *Am. Soc. Hematol*. 2014;124:3441–3450.
23. Kim Y, Lee G, Park J, et al. Quantitative fragment analysis of FLT3 -ITD efficiently identifying poor prognostic group with high mutant allele burden or long ITD length. *Blood Cancer J*. 2015;5:1-7.
24. Thiede C, Steudel C, Mohr B, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood*. 2002;99: 4326–4336.
25. Kroschinsky FP, Schäkel U, Fischer R, et al. Cup-like acute myeloid leukemia: new disease or artificial phenomenon? *Hematologica*. 2008;93:283-286.
26. Abel H, Lockwood C, Payton J, et al. Detection of FLT3 Internal Tandem Duplication in Targeted , Short-Read-Length , Next-Generation Sequencing Data Detection of FLT3 Internal Tandem Duplication in Targeted , Short-Read-Length , Next-Generation. *J. Mol. Diagnostics*. 2013;15:80–93.



## SANGRE, BARRO, PASTO

Recordar lo sucedido aquella noche de verano aún hoy me provoca enorme tristeza.

Soy médico, por esos años en formación, y aquel sábado era uno más. Calor, cansancio, sudor, enfermos. Y más enfermos. ¡Y los parientes de los enfermos!

A media tarde se escuchó el alarido de la sirena de ambulancia que se desplazaba hacia nosotros. Siempre pensé que el ulular de las sirenas es un grito desesperado, un aviso que algo grave está pasando en sus entrañas; un pedido de ayuda. Y allí estábamos nosotros en la puerta del hospital para dar esa ayuda.

Al llegar, tres médicos y enfermeros, no se quién era cual, bajaron una camilla con rapidez y, sobre ella un joven malherido.

-Iba de acompañante en una moto cuando los atropelló una chata desde atrás, el otro quedó muerto en la autopista. Un desastre-resumió uno de ellos.

El caos inicial dentro de la guardia fue cortado por la voz de mi jefe: -Hacete cargo, cualquier cosa estoy en el bar- dijo despidiéndose. Para él era rutina, para mí pura adrenalina. Mi primer accidentado grave.

Dejé de mirar y vi. Muchacho joven, hermoso físico, alto, fibroso. Múltiples heridas, escoriaciones, fracturas. Sangre, barro y pasto. Y un tubo por la boca. Estaba en coma. El jefe lo había dejado en mis manos y me temblaron las piernas.

Antes de dar la primera orden mis enfermeros ya le habían quitado la ropa, colocado sueros en los brazos, sondas y oxígeno. No abrí la boca. Todos los protocolos de atención para víctimas de accidentes habían huido de mi cerebro.

Al examinarlo comprendí que la sangre que formaba un diminuto arroyo desde su oído significaba lesión de base de cráneo y, por cómo extendía los brazos al estimularlo, estaba descerebrado.

"Hacete cargo", de qué me voy a hacer cargo si el chico ya estaba casi muerto, protesté por lo bajo.

Al rato llegó el neurocirujano, en treinta segundos hizo su diagnóstico:

-No hay nada que hacer macho, no tiene chances, mándalo a la UTI.

-No hay una puta cama – le dije.

-Tenelo vos entonces, no creo que te dure mucho – dijo encogién-

dose de hombros, y se fue. Para él, uno más, para mí el primero.

Un poco más tarde me dicen que alguien preguntaba por mí. Parado en la puerta de la sala de guardia un hombre mayor, de vestimenta humilde, pero bien arreglado, me miraba desesperado. Tenía una gorra en la mano, de esas que se usaban antes, mi tío carpintero calzaba una igual.

-Doctor. ¿Usted atiende a mi hijo? -preguntó mirando el apellido bordado en mi chaqueta.

-Sí maestro – contesté sabiendo de quién me hablaba.

- ¿Está mal? – su voz quebrada me llegó como un susurro.

\_Me temo que sí. Está muy mal – le dije sin mirarlo, no quería ver sus ojos, inundados de lágrimas sin salir.

-Se va a morir – inquirió casi sin poner el signo de pregunta.

-No lo decido yo, el de allá arriba sabe – acoté en mi defensa.

-Me deja verlo, por favor. Es lo único que tengo; la mamá se nos murió en el parto y desde entonces estamos los dos solitos.

-No le va a gustar como está, se lo aseguro – intenté persuadirlo.

-Doctor, tiene 17 añitos y si se va a morir, no le haga esto, debe estar asustado. Déjeme verlo, -me suplicó de tal manera que no pude negarme.

Cuando abrí la puerta y lo vio desnudo, herido, sucio, lleno de cables y mangueras, las piernas se le aflojaron y lo sostuve. Hizo un par de pasos y le apoyó las yemas de los dedos en el pecho, con delicadeza le quitó un poco de barro seco y pasto, se agachó sobre él. Con voz temblorosa y casi en susurro le dijo al oído:

-Hijo, si usted se muere, pida por su papa que se queda solo para siempre.

Me quedé parado, uno cree estar preparado para esas situaciones, pero no; algunas lágrimas se me sumaron en silencio.

Horas después aquél buen padre firmó el consentimiento para donar sus órganos y lo vi partir con la gorra en la mano sin mirar atrás.

*Del Libro "El recolector de almas y otros cuentos"*

*Dr. Gustavo Brizuela Médico*

*Editorial InterDocta*

**Instalaciones con 1821m<sup>2</sup> dispuestos para investigación,  
docencia y atención al paciente**



**15 boxes de extracción y 2 amplias salas de espera**



**Laboratorio dedicados a 13 especialidades bioquímicas y  
médicas equipados con tecnología de punta**



**Promoción y subsidio de investigación biomédica especializada  
en el campo de la oncología**



**fpm**

fundación  
para el progreso  
de la medicina

**Ciclos de conferencias y convenios de colaboración científica  
con instituciones públicas y privadas**



**ACCEDÉ A NUESTROS PRODUCTOS  
CON BENEFICIOS EXCLUSIVOS**

**ACREDITÁ TU SUELDO EN  
BANCO HIPOTECARIO**



Sucursal Neuquén: Av. Argentina 79  
Tel.: (0299) 449-1045 / 449-1013



**LIDMO**  
LABORATORIO DE INMUNOGENÉTICA  
Y DIAGNÓSTICO MOLECULAR

## ANÁLISIS DE ADN PATERNIDAD Y PARENTESCO BIOLÓGICO

PATERNIDAD, MATERNIDAD Y OTROS PARENTESCOS BIOLÓGICOS  
MÁXIMA EXPERIENCIA EN RESTOS ÓSEOS EN ARGENTINA

RECIBIMOS DERIVACIONES DE PROFESIONALES BIOQUÍMICOS

DIRECTOR | **Dr. Carlos M. Vullo** | Bioquímico, Dr. en Ciencias Químicas

Independencia 644 - 4º Piso - Córdoba - Tel: (0351) 4240434  
lidmo.secretaria@gmail.com - www.lidmo.com.ar



**BIOCON**

BIOCON  
alta complejidad bioquímica



*Calidad y compromiso  
en la entrega de resultados.*



TECNOLOGÍA **SIEMENS**

Implementamos nuevas **HERRAMIENTAS** de **COMUNICACIÓN**, para una relación más dinámica entre todos los bioquímicos.

 [biocon@biocon.com.ar](mailto:biocon@biocon.com.ar)  
TAMBIÉN PUEDE REALIZAR SU CONSULTA ENVIÁNDONOS SU PEDIDO MÉDICO

 **3512430482**  
Cba., San José de CALASANZ 258  
TEL (0351) 4253452

 **3513080115**  
JESÚS MARÍA, CBA. SARMIENTO 152  
TEL (03525) 424042

Director Científico: Dr. Daniele, José Julián M.P. 3780 | Jefe de Laboratorio : Dr. Ponce, Claudio M.P. 3303

# Compromiso, responsabilidad y servicio

Centro de provisión gestionado para  
beneficio y satisfacción del bioquímico.



- Insumos y equipos de primera calidad
- Existencia completa permanente
- Precios inmejorables
- Garantía de compra
- Entregas a domicilio
- Facilidades de pago



**PROVEEDURÍA ABC**

Coronel Olmedo 154

5000 Córdoba - Argentina

Pedidos: 0351-4257077

[proveeduriaabc@fibertel.com.ar](mailto:proveeduriaabc@fibertel.com.ar)

Comodidad, cordialidad, atención personalizada con novedades permanentes.

# DIFFU-PLATE

Placas de inmunodifusión radial (IDR) precalibradas y estandarizadas para cuantificar proteínas de interés clínico en suero y otros líquidos biológicos.

- Método de referencia.
- Preciso y exacto.
- Permite ensayos individuales.
- Óptima relación costo-beneficio.
- Manejo flexible del número de muestras por corrida.
- 12 pruebas por placa.
- Sencilla manipulación debido a su forma redonda.
- Cuenta con marca CE (Conformidad Europea).

## Determinaciones

Combinada (IgA + IgG + IgM)

Inmunoglobulina A (IgA)

Inmunoglobulina G (IgG)

Inmunoglobulina M (IgM)

Inmunoglobulina D (IgD)

Inmunoglobulina A Baja Concentración

Inmunoglobulina G Baja Concentración

Inmunoglobulina M Baja Concentración

Complemento C-3

Complemento C-4

Alfa-2-Macroglobulina

Transferrina

Alfa-1-Antitripsina

Ceruloplasmina

Alfa-1-Glicoproteína Ácida

Haptoglobina

Albúmina

Antitrombina III

Fibrinógeno

Señores asociados:

De conformidad con las disposiciones legales y estatutarias vigentes y en cumplimiento de lo resuelto por la Comisión Directiva en la reunión de fecha 27 de Agosto de 2018 convocase a Asamblea General Ordinaria a los señores asociados de la Asociación de Bioquímicos de Córdoba para el día 28 de septiembre de 2018 a las 19:30 horas en el Salón de Actos de calle Coronel Olmedo 156, de esta ciudad para considerar el siguiente:

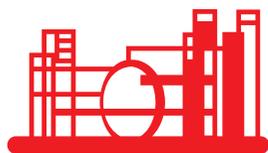
### ORDEN DEL DÍA

- 1) Designación de dos asociados que suscriban el acta de asamblea junto al Presidente y Secretario.
- 2) Consideración de la Memoria, Informe de la Comisión Revisora de Cuentas y documentación contable correspondiente al Ejercicio Económico N° 50, cerrado el 31 de Mayo de 2.018.

RECORDAMOS a nuestros asociados el Art. 4 inc.i):SOCIOS ACTIVOS-REQUISITOS de nuestros estatutos "Obligatoriedad de asistir a las Asambleas cualquiera sea su carácter, en caso de inasistencia a las mismas, deberá ser debidamente justificada ante la Comisión Directiva, dentro de los "QUINCE DIAS HÁBILES POSTERIORES" a su realización, en caso contrario será pasible de una sanción equivalente al valor de DIEZ (10) PRÁCTICAS MÍNIMAS calculadas al momento de ser abonadas conforme a los aranceles vigentes fijados por la autoridad competente . En los casos de alegarse razones de salud, deberá acompañarse certificación expedida por PROFESIONALES QUE SE DESEMPEÑEN EN ESTABLECIMIENTOS PÚBLICOS.

DRA. LUISA DIMARIA  
Secretaria de Actas

DR. ISABEL VIDELA  
Presidente



# Todo Droga



Equipamiento de Laboratorio



Material de Vidrio y Plastico



Instrumental de Laboratorio



La mas completa linea de reactivos



**LABORATORIOS  
GORNITZ S.A.**



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

# **LABORATORIOS GORNITZ S.A.**

**Certificado bajo normas:**

- ISO 9001
- ISO 14.001
- OHSAS 18.001



GESTION  
DE LA CALIDAD

RI-9000-5373

Acreditado por **OAA** ✓



GESTION  
DE LA CALIDAD

ISO 14001

Acreditado por **OAA** ✓



GESTION  
DE LA CALIDAD

ISO 18001

Acreditado por **OAA** ✓

**Bioquímica desde 1948**

**una historia de servicio, un futuro comprometido con su historia**

Catamarca 1328 - Villa María - Córdoba - **0800 888 5959**

[laboratorios@gornitz.com](mailto:laboratorios@gornitz.com) | [www.gornitz.com](http://www.gornitz.com)



# JORNADAS DE ACTUALIZACIÓN BIOQUÍMICA 2018

26 y 27 de Octubre  
Salón Iñiada  
Centro de Eventos y  
convenciones del  
Dinosaurio Mall  
Rodríguez del Busto 4086

## POSTERS – TRABAJOS

Premio al mejor trabajo \$ 10.000  
Fecha límite: viernes 21 de setiembre del 2018  
Enviar resumen a:  
[cursoanualbioquimica2016@gmail.com](mailto:cursoanualbioquimica2016@gmail.com)

# **Salón de Fiestas**

## **Asociación de Bioquímicos de Córdoba**



De la Aguada esq. Los Parlamentos - Villa Warcalde  
Consultas y Reservas 0351-4245330 int. 5  
[eventos@bioquimicoscba.com.ar](mailto:eventos@bioquimicoscba.com.ar)

## **Experiencia en la calidad...**



---

L A B O R A T O R I O  
**MASSA - SILEONI**

INDEPENDENCIA 644 PB - Tel (0351) 4212928/ 4250141  
CORDOBA X5000- Mail: [labmassasileoni@fibertel.com.ar](mailto:labmassasileoni@fibertel.com.ar)

# COR 50

Un coagulómetro automático para todo tipo de laboratorios, con la flexibilidad, la asistencia, la confianza y el servicio de Wiener lab.



- ✓ Equipo pequeño de sobremesa
- ✓ Simple manejo de datos en pantalla touch screen color
- ✓ 60 test/hora para TP
- ✓ Capacidad para 27 muestras a la vez, en un proceso de carga continua
- ✓ Determinaciones coagulométricas, cromogénicas y turbidimétricas
- ✓ Completamente bidireccional

Wiener Laboratorios SAIC



Riobamba 2944,  
S2003GSD Rosario, Argentina  
Tel.: +54 341 4329191/6  
Moreno 1850, 2° piso,  
C1094ABB Buenos Aires, Argentina  
Tel.: +54 11 43754151/4

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



Seguinos:  Wiener lab Group  
 @Wiener\_lab