

# Manejo de criptococosis meníngea refractaria: a propósito de un caso

Recibido: 27/07/2014 Aceptado: 25/08/2014

Claudia Frola<sup>1</sup>, Omar Sued<sup>2</sup>, Liliana Guelfand<sup>3</sup>, Mariana Erbin<sup>3</sup>,  
María Alicia Pagola<sup>4</sup>, Luciano Drivet<sup>4</sup>, Naldo Genoud<sup>4</sup>, Héctor Pérez<sup>1,5</sup>.

**Resumen** *La criptococosis es una de las infecciones oportunistas más frecuentes en pacientes con infección por HIV. La toxicidad de la anfotericina B y el aislamiento de un número creciente de cepas resistentes a fluconazol determinan la necesidad de tratamientos alternativos y estrategias novedosas. Este artículo presenta un paciente HIV positivo con criptococosis meníngea sin negativización de los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* con el tratamiento convencional de inducción con anfotericina B más fluconazol, y respuesta favorable al sustituir éste último antifúngico por voriconazol*

**Palabras clave:** *Cryptococcus neoformans*, meningitis, sida, voriconazol.

## Introducción

El creciente acceso a la terapia antirretroviral (TARV) ha transformado el pronóstico de la infección por HIV de ser una enfermedad mortal a una patología crónica. Sin embargo, la morbimortalidad continúa siendo alta debido al porcentaje significativo de personas que desconoce su situación serológica y se diagnostica en etapas avanzadas (diagnóstico tardío).

La criptococosis es una de las infecciones oportunistas más frecuentes en pacientes con infección por HIV,

<sup>1</sup>Servicio de Infectología, HGA Dr. Juan A. Fernández. CABA. Argentina.

<sup>2</sup>Área de Investigaciones Clínicas. Fundación Huésped. CABA. Argentina.

<sup>3</sup>Laboratorio de Microbiología, HGA Dr. Juan A. Fernández. CABA. Argentina.

<sup>4</sup>Servicio de Infectología. Sanatorio Junín. Junín. Provincia de Buenos Aires. Argentina.

<sup>5</sup>Docente Adscripto. Universidad de Buenos Aires, Orientación Infectología. CABA. Argentina.

DIRECCIÓN PARA CORRESPONDENCIA:

CLAUDIA FROLA.

Servicio de Infectología. HGA Dr. Juan A. Fernández.

Cerviño 3356. 1425 CABA. Argentina. Tel: (54-11) 4808-2600 int 1040.

E-mail: [claudia.frola@hotmail.com](mailto:claudia.frola@hotmail.com)

y un gran contribuyente de la mortalidad temprana, representando entre el 13% y el 44% de las muertes en las cohortes en países en desarrollo (1).

Tanto en la guía de 2010 de la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de los EE.UU. (IDSA) como en las directrices de la OMS de 2011 se recomienda anfotericina B y 5-fluocitosina como tratamiento de inducción de primera línea para los pacientes con meningitis criptocócica. Para países, en los que la 5-fluocitosina no está disponible, el tratamiento de inducción se compone de anfotericina B y de altas dosis de fluconazol (800-1.200 mg por día) (2).

La toxicidad de la anfotericina B y el aislamiento de un número creciente de cepas resistentes a fluconazol determinan la necesidad de tratamientos alternativos y estrategias novedosas (3). El voriconazol es un triazol con elevada biodisponibilidad, un amplio volumen de distribución, buena penetración en el sistema nervioso central y excelente actividad *in vitro* frente a *Cryptococcus neoformans* (4).

Se presenta un caso de criptococosis meníngea en un paciente HIV positivo con falta de respuesta al tratamiento convencional de inducción con anfotericina B más fluconazol, con negativización de cultivos al sustituir éste último antifúngico por voriconazol.

## Caso clínico

Paciente masculino de 34 años con diagnóstico de HIV desde 1998, con antecedentes de histoplasmosis diseminada en 2003, neumonía por *Pneumocystis jirovecii* en 2012 y condilomas anales. Expuesto a múltiples esquemas antirretrovirales y con un recuento de CD4 de 54 células/mm<sup>3</sup>. Reinicia su último esquema de TARV con lamivudina, zidovudina, tenofovir, lopinavir y ritonavir en febrero de 2013. Registra internación en marzo de ese mismo año por fiebre y cefalea de intensidad 5/10 de una semana de evolución, se realiza TAC de encéfalo que no muestra lesiones y punción lumbar con tinta china positiva, por lo que se diagnostica compromiso meníngeo por *Cryptococcus* spp. Inicia tratamiento con anfotericina B deoxicolato + fluconazol 800 mg/día por 21 días, continuando por mejoría clínica con ésta última medicación en monoterapia y egreso hospitalario. Se reinternar a las 2 semanas por reaparición de sintomatología con cefalea y fiebre, cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR) de control de dos días previos, con resultado positivo para *C. neoformans* con CIM para fluconazol de 4 µg/mL. Completa nuevo ciclo de 28 días de anfotericina B deoxicolato + fluco-

nazol 1.200 mg/día. Durante esa internación presenta como complicación tromboembolismo de pulmón secundario a trombosis venosa profunda, por lo que inicia anticoagulación. Egresar con terapia de consolidación con fluconazol 1.200 mg/día. Cultivo de LCR efectuado 60 días después de completar el ciclo de reinducción, con resultado negativo. Al cabo de tres meses, suspende por 15 días el fluconazol y la TARV por intolerancia digestiva y empeoramiento de la diarrea. Se decide rotar esquema antirretroviral a emtricitabina, tenofovir, darunavir y ritonavir para asegurar mejor tolerancia y adherencia. A los 138 días de la suspensión de la anfotericina consulta por cefalea holocraneana, progresiva, de intensidad 8/10 sin respuesta a la analgesia, confusión, rigidez de nuca, vómitos y fotofobia. Se inicia tercer ciclo de inducción con anfotericina B deoxicolato y fluconazol 1.200 mg/día. Se obtienen cultivos de LCR positivos para *C. neoformans* con CIM en ascenso (CIM: 8 µg/mL) para fluconazol. En el transcurso de la internación presenta hipokalemia persistente acompañado de falla renal, interpretándose como secundario al tratamiento con anfotericina B deoxicolato. Dado que acumulaba 4,2 gramos de anfotericina, la presencia de efectos adversos y la posible resistencia del *C. neoformans*, se realiza sustitución por anfotericina liposomal y reemplazo de fluconazol por voriconazol 800 mg/día (doble dosis debido a la interacción con ritonavir). Durante la internación requirió múltiples punciones lumbares evacuadoras por persistencia de cefalea y presión de apertura elevada. A los 25 días de tratamiento se externa y continuó con voriconazol a dosis de 800 mg/día hasta completar 8 semanas. Los últimos dos cultivos de LCR de control fueron negativos. En marzo de 2014 por buena evolución clínica, valores de CD4 en mejoría (CD4: 127 células/mm<sup>3</sup>) y carga viral para HIV en descenso (CV: 47 copias/mL) se rota voriconazol a fluconazol 800 mg/día. Desde junio de este año se encuentra con fluconazol 400 mg/día y TARV con buena tolerancia y adherencia.

## Discusión

El *C. neoformans* es el agente de una de las micosis sistémicas más frecuentes en pacientes con infección por HIV, y una causa principal de mortalidad, especialmente en países en desarrollo. Aunque la incidencia de la criptococosis invasiva ha disminuido sustancialmente desde el uso generalizado de la TARV, todavía se produce en las poblaciones con acceso limitado a la atención médica, así como aquellos con falla o abandono de ésta medicación (5).

La anfotericina B, el fluconazol y la 5-flucitosina son los fármacos más utilizados en las terapias para criptococosis. Por más de 30 años, la anfotericina B se ha utilizado para tratar las infecciones fúngicas graves, pero su uso actual está siendo limitado debido a diversos efectos adversos, entre ellos el más importante, la nefrotoxicidad. El fluconazol es el medicamento más usado para el tratamiento de la criptococosis meníngea, principalmente en países que no disponen de 5-flucitosina, como es nuestro caso, pero su uso frecuente durante períodos prolongados puede provocar resistencia (6).

Se ha definido la criptococosis refractaria como la persistencia de cultivos positivos de LCR después de 4 semanas de terapia antifúngica a una dosis efectiva. La recaída de la infección tiene dos características importantes. En primer lugar, la recuperación de hongos viables desde un sitio estéril y segundo, la reaparición de los signos y síntomas en el sitio anterior de la enfermedad que determinan la presencia de la misma. En una infección recidivante, estas dos características se han normalizado y después reaparecen (7).

El riesgo de recurrencia en criptococosis meníngea se presenta en un 18 % de los casos, por lo general en el primer año después de la finalización del tratamiento, con una media de 3,5 meses. El abordaje terapéutico de recaída sigue los mismos principios de la primera infección (8). La infección refractaria obliga a considerar la posible presencia de resistencia a fluconazol, siendo necesaria la realización de pruebas de sensibilidad. Los valores de corte de CIM para *C. neoformans* se basan en los datos clínicos aislados, ya que no existen actualmente valores definidos publicados por los centros de referencia: EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) y CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Una CIM de  $\leq 8 \mu\text{g/mL}$  se considera susceptible, la resistencia dependiente de la dosis con una CIM entre 16 y  $32 \mu\text{g/mL}$ , mientras que la CIM  $\geq 64 \mu\text{g/mL}$  debe considerarse como evidencia de resistencia (9).

En nuestro paciente pudo evidenciarse en un comienzo una persistencia de infección a pesar de un primer tratamiento adecuado y una CIM para fluconazol que se considera sensible, pudiendo lograr una negativización de los cultivos de LCR recién a los 4 meses posteriores al primer esquema de antifúngicos. Pasados 3 meses de estos resultados negativos, presenta nueva sintomatología y rescates microbiológicos positivos, determinando un cuadro compatible con recaída.

Existen múltiples posibles causas de recaída de la infección criptocócica entre ellos: la actividad del régimen antimicótico inicial, el cumplimiento de la profilaxis secundaria con fluconazol y el uso de la TARV con sus posibles interacciones. Teniendo en cuenta que nuestro paciente presentaba un régimen de TARV con ritonavir, evaluamos las posibles interacciones principalmente con el fluconazol, como una causa de falla de tratamiento. No se han determinado interacciones entre las drogas de la familia de inhibidores de la proteasa y el fluconazol, excepto con tipranavir/ritonavir que asociado a fluconazol puede duplicar la concentración mínima de tipranavir, recomendándose no superar las dosis de fluconazol a 200 mg/día. Por el contrario, con el voriconazol, al combinarlo con ritonavir se producen disminuciones significativas en las concentraciones del antifúngico (aproximadamente de un 40 %), debiendo en este caso aumentar las dosis del mismo para no perder eficacia (10).

Por otra parte nuestro paciente también estuvo expuesto a anticoagulantes orales por la presencia de tromboembolismo pulmonar, sin embargo al evaluar su administración conjunta con fluconazol encontramos como resultado el aumento de los efectos anticoagulantes, al causar una inhibición del metabolismo dependiente de la dosis. Es por esto que si se añade fluconazol al tratamiento con anticoagulantes como el acenocumarol, deberían controlarse bien los tiempos de protrombina y, si hace falta, reducirse la dosis de este último medicamento (11).

Como se comentó anteriormente debido a la toxicidad de la anfotericina B y la posibilidad de enfermedad refractaria se eligió sustituir el fluconazol por otro miembro de la familia de los azoles, como el voriconazol y utilizar anfotericina liposomal.

Se ha propuesto el uso de voriconazol para la enfermedad refractaria, aunque los ensayos comparativos que evalúan la terapia de segunda línea para la recaída en criptococosis meníngea son limitados. El tratamiento con voriconazol presentó no inferioridad comparado con 5-flucitosina y dosis altas de fluconazol, como terapia combinada con anfotericina en un ensayo aleatorizado en Sudáfrica (12). Así mismo se ha utilizado con éxito en el tratamiento de la enfermedad refractaria, especialmente en el contexto de resistencia secundaria a fluconazol (4-13). Ante la falta de negativización de los cultivos de LCR con anfotericina B y fluconazol a altas dosis, la sustitución de éste último antifúngico por voriconazol fue efectiva, obteniéndose esterilización del LCR a los 10 días de iniciado el nuevo tratamiento.

Cabe destacar que a pesar de poder considerarse una alternativa ante casos de mala respuesta, su alto costo, las interacciones entre voriconazol y la TARV, limitan el uso en entornos con escasos recursos (14).

Por otra parte en la guía de la IDSA de 2010 se plantea como posibilidad de considerar la terapia inmunológica adyuvante con IFN- $\gamma$  recombinante durante 10 semanas para la infección refractaria, con el uso concomitante de un fármaco antifúngico específico, aunque esta recomendación es basada en opinión de expertos.

Como se mencionó al describir el caso, debido a las importantes reacciones adversas de la anfotericina B deoxicolato, principalmente a nivel renal, se rotó la misma a la forma liposomal. En un ensayo aleatorizado, doble ciego, multicéntrico que comparó 2 dosis diferentes de anfotericina B liposomal con anfotericina B deoxicolato para meningitis criptocócica en pacientes con HIV, demostró que los 3 regímenes tuvieron un éxito similar. La anfotericina B liposomal es una alternativa igualmente eficaz que la anfotericina B deoxicolato en pacientes con HIV y meningitis criptocócica, y a una dosis de 3 mg/kg/día presenta significativamente menos efectos adversos (15). Dado que la forma liposomal no ha demostrado mayor eficacia que el deoxicolato, no podemos atribuir la evolución de nuestro paciente al cambio de formulación de la anfotericina.

Por último, se subraya que un determinante mayor de la evolución de la meningoencefalitis criptocócica, es el control de la presión del LCR. En la mitad de los pacientes con HIV y criptococosis meníngea se encuentra elevada la presión intracraneal basal (es decir, > 25 cm de H<sub>2</sub>O). Este nivel de presión del LCR en general está ligado a un aumento de la carga de levaduras, pudiendo estar asociada con una mayor morbilidad y mortalidad, especialmente en el curso temprano del tratamiento (7).

Si bien el paciente descripto requirió múltiples punciones lumbares evacuadoras por persistencia de cefalea y presión de apertura elevada, no fue necesaria la colocación de derivación para su manejo.

En conclusión presentamos un caso de criptococosis refractaria, tratada eficazmente con anfotericina liposomal y voriconazol. Esta alternativa debe considerarse en casos de enfermedad refractaria a fluconazol.

**Tabla 1. Resultados microbiológicos del LCR**

Fecha	Cultivo <i>Cryptococcus neoformans</i>	CIM Fluconazol	Antigenorraquia
16/03/2013	Positivo		
18/04/2013	Positivo	4	1/10
16/07/2013	Negativo		Líquido puro
09/10/2013	Positivo	4	1/1000
05/11/2013	Positivo	8	1/1000
16/12/2013 (*)	Negativo		
24/12/2013	Negativo		

(\*) Bajo tratamiento con voriconazol en día 10 y anfotericina liposomal en día 3.

**Tabla 2. Esquemas terapéuticos indicados**

Fecha inicio	Fecha final	Medicación	Comentario
16/03/2013	06/04/2013	Anfotericina B deoxicolato + fluconazol 800 mg/día	Egres a con fluconazol 800 mg/día
20/04/2013	18/05/2013	Anfotericina B deoxicolato + fluconazol 1.200 mg/día	Egres a con fluconazol 1.200 mg/día
04/10/2013	06/12/2013	Anfotericina B deoxicolato + voriconazol 800 mg/día	06/12/2013 rota a voriconazol 800 mg/día
13/12/2013	29/12/2013	Anfotericina liposomal + voriconazol 800 mg/día	Egres a con voriconazol 800 mg/día
12/03/2014	12/06/2014	Fluconazol 800 mg/día	
12/06/2014	Continúa	Fluconazol 400 mg/día	

## Referencias

- 1) Park BJ, et al. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 2009;23(4):525-30.
- 2) Loyse A, et al. Cryptococcal meningitis: improving access to essential antifungal medicines in resource-poor countries. Published online June, 2013.
- 3) Sar B, et al. Increasing in vitro resistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* cambodian isolates: April 2000–March 2002. *J Antimicrob Chemother.* 2004;54:563-5.
- 4) Silva EG et al. Combination efficacy of voriconazole and amphotericin B in the experimental disease in immunodeficient mice caused by fluconazole-resistant *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia* 2011;171:261-266.
- 5) Park BJ, Wannemuehler KA, Marston BJ, Govender N, Pappas PG, Chiller TM. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *AIDS* 2009; 23:525-530.
- 6) Silva EG et al. Voriconazole, combined with amphotericin B, in the treatment for pulmonary cryptococcosis caused by *C. neoformans* (Serotype A) in mice with severe combined immunodeficiency (SCID). *Mycopathologia* 2012; 173:445-449.
- 7) Perfect JR, et al. Clinical practice guidelines for management of cryptococcal disease: 2010 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2010; 50:291-322.
- 8) Consenso em criptococose-2008. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2008; 41(5):524-44.
- 9) Aller AI, Martin-Mazuelos E, Lozano F, Gomez-Mateos J, Steele-Moore L, et al. Correlation of fluconazole MICs with clinical outcome in cryptococcal infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:1544-48.
- 10) Serrano López de las Hazas J. Interacciones farmacológicas de los nuevos antirretrovirales. *Farm Hosp.* 2011;35(1):36-43.
- 11) Neal JM, et al. An in vivo parameter for predicting the magnitude of a drug interaction arising from competitive enzyme inhibition. *Drug Metab Dispos* 2003; 31:1043-8.
- 12) Loyse A, Wilson D, Meintjes G, Jarvis JN, Bicanic T, et al. Comparison of the early fungicidal activity of high-dose fluconazole, voriconazole, and flucytosine as second-line drugs given in combination with amphotericin B for the treatment of HIV-associated cryptococcal meningitis. *Clin Infect Dis.* 2012; 54:121-128.
- 13) Carbonara S, Regazzi M, Ciraci E, Villani P, Stano F, et al. Long-term efficacy and safety of TDM-assisted combination of voriconazole plus efavirenz in an AIDS patient with cryptococcosis and liver cirrhosis. *Ann Pharmacother.* 2009;43:978-984.
- 14) Yakiwchuk EM, Foisy MM, Hughes CA. Complexity of interactions between voriconazole and antiretroviral agents. *Ann Pharmacother.* 2008.
- 15) Hamill R, et al. Comparison of 2 doses of liposomal amphotericin B and conventional amphotericin B deoxycholate for treatment of AIDS-associated acute cryptococcal meningitis: a randomized, double-blind clinical trial of efficacy and safety. *Clin Infect Dis.* 2010;51(2):225-232.

## **Management of refractory cryptococcal meningitis: report of a case**

**Summary** *Cryptococcosis is one of the most common opportunistic infections in patients with HIV infection. The toxicity of amphotericin B and isolation of an increasing number of strains resistant to fluconazole dictate the need for alternative treatments and novel strategies. This paper presents an HIV positive patient with cryptococcal meningitis without negativisation Cryptococcus neoformans isolates with conventional induction therapy with amphotericin B plus fluconazole, and favorable to the latter replaced by voriconazole antifungal response.*

**Key words:** *Cryptococcus neoformans, meningitis, AIDS, voriconazole*

# Guía para los autores

## Nota aclaratoria

Las presentes guías cumple con lo formulado por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (*ICMJE* por sus siglas en inglés) en sus "Requisitos Uniformes para los Manuscritos Enviados a Revistas Biomédicas: redacción y edición para publicación biomédica". La versión integral de tales requisitos puede obtenerse en: <http://www.icmje.org/>.

## Propósitos

"*Actualizaciones en Sida e Infectología*" es una revista científica con evaluación por pares, publicada por Fundación Huesped y la Sociedad Argentina de Infectología, destinada a la difusión de temas vinculados con la investigación clínica, epidemiológica y social que contribuyan al conocimiento de la epidemia del HIV/sida y de la infectología clínica en todos sus aspectos.

Se publicarán informes de investigaciones originales, observaciones clínicas originales, análisis de aspectos filosóficos, éticos o sociales, revisiones críticas, compilaciones estadísticas, descripción de métodos o procedimientos de evaluación, informe de casos, correspondencia, comentarios editoriales, calendario de encuentros y congresos nacionales e internacionales vinculados a la temática mencionada así como una puesta al día con las novedades de los principales eventos científicos.

## Proceso de revisión por pares (peer review)

El material enviado para su publicación será sometido a evaluación externa de dos árbitros quienes pueden ser o no integrantes del Comité Asesor Científico. Los aspectos relevantes del procedimiento de arbitraje se ajustan a las normas internacionalmente aceptadas. En el formulario con el que se acompaña el manuscrito para su revisión, se detallan las principales recomendaciones elaboradas por la *ICMJE* contenidas en el acápite II.E.2. De tal análisis dependerá su aceptación, previas modificaciones o no.

El Comité de Redacción se reserva el derecho de efectuar las correcciones de estilo que estime oportunas. El material aceptado y publicado no podrá ser reproducido sin la expresa autorización de los Propietarios.

## Naturaleza de los trabajos considerados para su publicación

### Informe de investigación original

Su extensión será de 4.500 palabras, que no incluyen resumen en español e inglés, palabras clave en ambos idiomas, referencias ni leyendas de las figuras. El resumen será de tipo estructurado e incluirá Introducción, Métodos, Resultados y Discusión. La cantidad total combinada de tablas y figuras será de 5 y las referencias no podrán exceder las 50.

### Comunicación breve

Son investigaciones originales con los estudios finalizados pero que no requieren de un informe completo

## Instrucciones para la remisión de trabajos

Los autores deberán remitir sus manuscritos originales por correo electrónico a: [asei@huesped.org.ar](mailto:asei@huesped.org.ar), adjuntando el manuscrito escrito a doble espacio mediante un procesador de texto, sobre una página configurada a tamaño A4, con márgenes no inferiores a 2,5 cms. El número consecutivo de página deberá estar indicado en el margen superior derecho de cada una, comenzando por la página titular.

Los **informes de casos** incluirán como máximo un número de tres pacientes o un grupo familiar, título en español e inglés —el que no deberá indicar el diagnóstico final— nombre y apellido de los autores, un resumen, cuya extensión no podrá ser superior a 150 palabras, con una breve descripción del caso al momento de la primera evaluación clínica y resultados. Estará redactado en español e inglés (summary) y acompañado por entre 3 y 5 palabras clave y *key words*. Estarán compuestos por: a) caso propiamente dicho; b) evolución; c) comentario y discusión. Su extensión no será superior a las 2.000 palabras, podrá incluir una tabla y hasta tres figuras y no más de 10 referencias.

## Página titular

Deberá contener: a) el título del artículo, en español e inglés que deberá ser conciso pero informativo (no más de 120 caracteres con espacios); b) título corto o *running title* con no más de 40 caracteres; c) el tipo o naturaleza del trabajo; d) el nombre y apellido de cada autor, con su más alto grado o grados académico(s) y filiación institucional; e) el nombre del o los departamento(s) e institución(es) a los cuales se debe acreditar el trabajo; f) descargo de responsabilidades si los hubiera; g) nombre y dirección postal del autor responsable de la correspondencia acerca del manuscrito y dirección de e-mail; h) fuente(s) de apoyo en forma de financiamiento, equipamiento, medicamentos o todos ellos; i) cantidad de palabras que contiene el trabajo; j) el número de figuras y tablas que se acompañan.

A continuación y en forma independiente a los ítems antes expuestos, el/los autor/es debe/n notificar claramente la existencia o no de algún tipo de conflicto de intereses.

## Resumen y palabras clave

La segunda página debe incluir un resumen (no mayor de 150 palabras en el caso de los resúmenes no estructurados y 250 en los resúmenes estructurados). El resumen debe declarar los propósitos del estudio o investigación, los procedimientos básicos (selección de los sujetos de estudio o animales de laboratorio, métodos de observación y analíticos), hallazgos principales (proporcionando datos específicos y su significación estadística, de ser posible) y las conclusiones principales. Se debe enfatizar los aspectos nuevos e importantes del estudio u observaciones. Deberá estar redactado en español e inglés.

Debajo del resumen, los autores deben incluir e identificar como tales, entre 3 y 10 palabras clave o frases breves (en español e inglés) que puedan ayudar a los referencistas en la indexación cruzada del artículo y que pudieran ser publicadas con el resumen. Deben ser empleados los términos de la lista de los Encabezamientos de Temas Médicos (*Medical Subject Headings, MeSH* por sus siglas en inglés) del *Index Medicus*. Si no hay aún términos *MeSH* disponibles para las expresiones de reciente introducción, se pueden emplear palabras actuales. Mayor información puede encontrarse en <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html>.

## Introducción

Se describirán los antecedentes que llevaron al autor a efectuar el trabajo, tratando de situar al mismo dentro del contexto actual del tema. Luego, se explicarán los objetivos. Todo esto deberá estar acompañado de una bibliografía que sustente las afirmaciones.

## Métodos

Debe incluir únicamente la información que estaba disponible cuando se escribió el plan o protocolo de estudio; toda información obtenida durante la conducción del estudio pertenece a la sección de Resultados. Esta sección debe incluir los siguientes acápites:

1. Selección y descripción de los participantes.
2. Información técnica.
3. Estadística.

## Resultados

Presente los resultados en una secuencia lógica en el cuerpo del texto, los cuadros y las ilustraciones. No repita en el cuerpo del texto todos los datos incluidos en los cuadros o en las ilustraciones. Enfatice o resuma cualquier observación importante.

## Discusión

Destaque los aspectos nuevos o importantes del estudio y en las conclusiones que se derivan de él. No repita datos en detalle u otro material presentado en la "Introducción" o en "Resultados". Incluya, en la sección "Discusión", las implicancias de los hallazgos y sus li-

mitaciones, incluidas las consecuencias para futuras investigaciones. Relacione las observaciones con otros estudios relevantes.

### Reconocimientos

Se debe especificar con uno o más enunciados: a) aquellas contribuciones que requieran un reconocimiento, pero que no justifiquen la autoría, como, por ejemplo, el apoyo general brindado por un jefe de departamento; b) el reconocimiento por las asistencias técnicas; c) los reconocimientos por el apoyo material y financiero, que deben especificar la naturaleza del apoyo, y d) las relaciones que puedan plantear un conflicto de intereses.

### Referencias

Las referencias se deben numerar consecutivamente en el mismo orden en que se mencionan dentro del cuerpo del texto, identificándolas mediante llamadas con números arábigos entre paréntesis. No indique referencias mediante la forma de inserción de notas al pie utilizando superíndices.

Utilice el estilo editorial de los ejemplos que siguen más abajo, basados en los formatos establecidos por el *ICMJE*. Una completa muestra de referencias, en idioma español, puede encontrarse en el sitio: <http://www.wame.org/urmreferenciasinter.pdf>.

Los nombres de las revistas se deben abreviar de acuerdo con el estilo editorial utilizado en el Index Medicus. Consulte "*List of Journals Indexed in Index Medicus*", que se puede obtener a través de la página de la Biblioteca en Internet: <ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/lisweb.pdf>

Ejemplo 1 (revista): Relacione los seis primeros autores seguidos por la expresión et al precedida por una coma.

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002 Jul 25; 347(4): 284-7.

Como opción, si una revista tiene paginación continua por volumen (como la mayoría) se puede omitir el mes y el número de edición.

Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med*. 2002; 347: 284-7.

Ejemplo 2 (libro):

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

Ejemplo 3 (capítulo de un libro):

Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995, p. 465-78.

Ejemplo 4 (abstract):

Mosier D, Picchio G, Sabbe R, Lederman M, Offord R. Host and Viral Factors Influence CCR5 Receptor Blockade. 7th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infection. San Francisco. January 30-February 2, 2000 [abstract 497].

Mayor información sobre muestras de referencias puede consultarse en español en el sitio:

<http://www.wame.org/urmreferenciasinter.pdf>

### Tablas o Cuadros

Indique las tablas en la página siguiente a las Referencias. No los presente en papel fotográfico. Numérelas consecutivamente por el orden de aparición de las menciones en el cuerpo del texto y déle un breve título a cada uno. Encabece cada columna con un texto breve o abreviado. Ubique todo el material explicativo en notas al pie del cuadro y no en su cabeza. Explique en las notas al pie todas las abreviaturas no estandarizadas que se empleen en cada uno. Utilice los símbolos siguientes, y en este mismo orden, como llamadas para las notas al pie del cuadro: \*, †, ‡, §, ||, ¶, \*\*, ††, ‡‡, etc. No se utilizan líneas horizontales ni verticales internas.

### Ilustraciones (Figuras)

Deben ser presentadas profesionalmente como archivo adjunto y no insertadas o colocadas en el cuerpo de texto. El archivo deberá tener formato .gif, .jpg, .tif, .ppt, .ai. Evite la utilización de fondos oscuros que perjudican la calidad de lectura de la información indicada. Los titulares y las explicaciones detalladas en las ilustraciones forman parte de las leyendas o epígrafes de las figuras y no de las ilustraciones mismas.

*Leyendas de las figuras.* Indique las leyendas a dos espacios y en página aparte, con los números arábigos correspondientes al número de cada

ilustración. Cuando se empleen símbolos, flechas, números o letras para identificar partes dentro de la ilustración, identifique y explique cada uno con claridad en la leyenda. Explique las escalas interiores e identifique el método de coloreado usado en las microfotografías.

### Abreviaturas y símbolos

Utilice sólo abreviaturas estándar. Evite las abreviaturas en el título y en el resumen. El término completo representado por la abreviatura debe preceder dicha abreviatura la primera vez que aparece en el cuerpo del texto, a menos de que se trate de una unidad estándar de medida.

### Pacientes y participación en estudios

Acorde a las pautas del *ICMJE (II.E. Privacidad y confidencialidad)*, los pacientes tienen derecho a la privacidad que no debe violarse sin consentimiento informado. La información de la identificación, incluyendo los nombres, iniciales, o números del hospital de los pacientes, no deben publicarse en descripciones escritas, fotografías y árboles genealógicos, a menos que la información sea esencial con propósitos científicos, y que el paciente (o el padre o tutor), proporcione consentimiento informado y por escrito para su publicación. El consentimiento informado con este propósito requiere que un paciente identificable se muestre en el manuscrito que va a publicarse.

Se deben omitir los detalles de la identificación si no son esenciales. El anonimato completo es difícil de alcanzar y se debe obtener consentimiento informado si hay cualquier duda. Por ejemplo, cubrir la región de los ojos en las fotografías de los pacientes es una protección inadecuada del anonimato. Si los datos se cambian para proteger el anonimato, los autores deben proporcionar la seguridad de que las alteraciones de los datos no distorsionan el significado científico. Cuando se ha obtenido el consentimiento informado debe indicarse en el artículo publicado.

### Protección de los sujetos humanos y animales en investigación.

Cuando se informa de experimentos en sujetos humanos, los autores deben indicar si los procedimientos seguidos estuvieron de acuerdo con las normas éticas del comité responsable de experimentación humana (institucional y nacional) y con la *Declaración de Helsinki* de 1975, revisada en 2000. Si existe duda de si la investigación se llevó a cabo de acuerdo a la Declaración de Helsinki, los autores deben explicar la razón de su enfoque, y demostrar que el comité de revisión institucional aprobó explícitamente los aspectos dudosos del estudio.

Cuando se informa de experimentos en animales, se debe pedir a los autores que indiquen si se siguieron las guías institucionales y nacionales para el cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### Listado de verificación

Como paso previo al envío del manuscrito verifique que todos los componentes han sido incluidos:

1. El título del artículo en español e inglés y el título abreviado o *running title*. Los títulos no incluirán abreviaturas. Evite el uso de mayúsculas.
2. Nombre y apellido de cada autor y sus filiaciones institucionales.
3. Nombre, dirección postal, número de teléfono y fax y correo electrónico del autor responsable de la correspondencia.
4. Cantidad de palabras del manuscrito.
5. El número de tablas y figuras que lo integran.
6. Conflicto de intereses si los hubiera, incluyendo toda información relativa a las vinculaciones profesionales y financieras del/los autor/es que se perciba puedan haber influido en la presentación.
7. Resumen (en español e inglés) y palabras clave (en español e inglés) en la extensión y cantidad mencionadas. No incluya referencias en el resumen.
8. Texto: evite el uso de mayúsculas en los subtítulos, en el enunciado de fármacos y el de enfermedades o síndromes (excepto que se trate de nombres propios).
9. Agradecimientos.
10. Referencias, indicadas en números arábigos y entre paréntesis a medida que aparecen en el texto con el formato adoptado por *NLM* que pueden ser consultadas en la dirección de internet antes mencionada. No utilice inserciones de superíndices.
11. Tablas y Figuras identificadas según especificaciones del presente Reglamento. Las figuras deben adjuntarse en archivo separado y los formatos aceptables son: .gif, .jpg, .tif, .ppt, .ai. No inserte imágenes dentro del cuerpo de texto.