

Hospital Pediátrico Universitario "Jose Luis Miranda"

ARTÍCULO CLÁSICO

Utilidad diagnóstica de los anticuerpos antitransglutaminasa tisular en niños con síntomas digestivos crónicos y sospecha de celiaquía

Dr. Rodolfo Valdés Landaburo¹

Dr. Juan Mario Reyes Vera²

Dr. Manuel Lara Martín³

Dra. Omaid J. López Bernal⁴

MSc. Dr. Teddy Osmin Tamargo Barbeito⁵

Dra. Ismaris Bello Peña⁶

RESUMEN

Introducción: la enfermedad celíaca es la enteropatía crónica más frecuente en el mundo, pero se desconoce su ocurrencia en niños con síntomas digestivos crónicos en nuestro medio.

Objetivo: evaluar la utilidad diagnóstica de los anticuerpos antitransglutaminasa tisular en niños con síntomas digestivos crónicos.

Métodos: investigación prospectiva entre enero de 2008 y abril de 2011 en el Hospital Pediátrico Universitario "José Luis Miranda" de Santa Clara que incluyó 535 infantes en los que se pesquisarón anticuerpos antitransglutaminasa tisular, se tomaron biopsias transendoscópicas del duodeno que se interpretaron según la clasificación de Marsh-Oberhuber y se relacionaron con la prueba serológica, se evaluó la eficacia diagnóstica de los anticuerpos y se estimó la frecuencia de celiaquía.

Resultados: solo 11 pacientes resultaron positivos a la determinación de anticuerpos (2.1%), el tipo de lesión anatomopatológica predominante en los pacientes positivos para los anticuerpos fue característico de la enfermedad celíaca -nueve niños (75%)-, se comprobó la concordancia entre los diagnósticos serológicos e histopatológicos del duodeno ($K=0.78$; $p<0.001$), la frecuencia de enfermedad celíaca en la serie fue de 2.2% (12 pacientes) y la sensibilidad y la especificidad de los anticuerpos fue de 75% y 99% respectivamente.

Conclusiones: se demostró baja frecuencia de celiaquía en la serie y se obtuvo una buena eficacia diagnóstica de la prueba serológica en niños con sospecha de esta enfermedad.

DeCS:

SIGNOS Y SINTOMAS DIGESTIVOS
ENFERMEDAD CRONICA
ANTICUERPOS/uso diagnóstico
ENFERMEDAD CELIACA
NIÑO

SUMMARY

Introduction: Celiac disease is the most common chronic enteropathy in the world, but its occurrence in children with chronic gastrointestinal symptoms in our environment is unknown.

Objective: To evaluate the diagnostic utility of anti-tissue transglutaminase antibodies in children with chronic digestive symptoms.

Methods: A prospective study was carried out from January 2008 to April 2011 at the José Luis Miranda Pediatric University Hospital in Santa Clara. It included 535 infants in which anti-tissue transglutaminase antibodies was screened. Duodenal transendoscopic biopsies were taken, which were interpreted according to the Marsh-Oberhuber classification and were related to the serological test. The diagnostic efficacy of the antibodies was assessed and the frequency of celiac disease was estimated.

Results: Only 11 patients were positive for antibody determination (2.1%). The predominant type of anatomic-pathologic lesion in patients who were positive for antibodies was typical of celiac disease (9 boys, 75%). There was an agreement between the serological and histopathological diagnosis of the duodenum ($K=0.78$, $p<0.001$). The frequency of celiac disease in the series was 2.2% (12 patients). The sensitivity and specificity of the antibodies was 75% and 99% respectively.

Conclusions: There was a low frequency of celiac disease in the series, and a good diagnostic accuracy of the serological tests in children suspected of suffering the disease was achieved.

MeSH:

SIGNS AND SYMPTOMS, DIGESTIVE
CHRONIC DISEASE
ANTIBODIES/diagnostic use
CELIAC DISEASE
CHILD

INTRODUCCIÓN

La enfermedad celíaca (EC), enteropatía sensible al gluten o celiacía es la más frecuente de las afecciones crónicas del intestino en el hombre. Actualmente se considera una condición autoinmune originada por la ingestión del gluten del trigo y las proteínas relacionadas de la cebada y el centeno, las denominadas prolaminas de estos cereales (gliadina, hordeína y secalina), que provocan una lesión inmunomediada de la mucosa del intestino delgado en individuos genéticamente predispuestos.¹⁻³

En las últimas décadas las evidencias demuestran que ha dejado de ser una enfermedad rara y se presenta no solo en niños pequeños; sin embargo, el proceso de diagnóstico, desde las primeras contribuciones científicas en 1888 hasta la actualidad, se ha complejizado porque los hallazgos anatomopatológicos no son patognomónicos y en nuestro tropical ecosistema la similitud con la giardiosis y otras situaciones específicas como la diarrea persistente plantean un desafío diagnóstico. En este contexto la disponibilidad de los marcadores serológicos (anticuerpos antigliadina, antiendomio y antitransglutaminasa, entre otros), genéticos (antígenos de histocompatibilidad) y el inmunofenotipaje de linfocitos intraepiteliales del intestino delgado facilita el discernimiento, pero algunos de estos recursos solo están disponibles en centros de investigación con alta tecnología; por ello, la prevalencia real de esta enfermedad es difícil de precisar, y aunque globalmente se conoce que oscila en 1%,⁴⁻⁶ no hay investigaciones que reflejen la magnitud ni el comportamiento clínico-epidemiológico de la misma en nuestro país.

Con el presente estudio se pretendió conocer la frecuencia de presentación de la enfermedad celíaca en niños atendidos por síntomas digestivos crónicos durante los últimos tres años en el Hospital Pediátrico Universitario de Santa Clara; se utilizaron anticuerpos antitransglutaminasa tisular y examen histopatológico de la mucosa de duodeno distal.

MÉTODOS

Se realizó una investigación descriptiva y prospectiva en el Hospital Pediátrico Universitario "José Luis Miranda" de Santa Clara durante el período comprendido entre diciembre de 2007 y abril de 2011. El universo estuvo constituido por todos los pacientes menores de 19 años -siempre que hubiesen estado expuestos al gluten en su alimentación- que fueron atendidos en el Servicio de Gastroenterología, ya fuera en su sala de hospitalización o en sus consultas respectivas, por síntomas digestivos crónicos en el período estudiado. Se trabajó con una muestra no probabilística y se siguieron criterios de inclusión y de exclusión; los criterios de inclusión fueron ser menor de 19 años (con exposición al gluten en su alimentación) y presentar manifestaciones clínicas del sistema gastrointestinal sugestivas de enfermedad celíaca y los de exclusión fueron la negación de los padres para que sus hijos participaran en el estudio, documentarse parasitismo por *Giardia intestinalis* en examen de heces o el frotis duodenal o interrupción en cualquier etapa de la investigación. La muestra finalmente quedó constituida por 535 niños y adolescentes.

Como manifestaciones clínicas del sistema gastrointestinal sugestivas de enfermedad celíaca se consideraron las siguientes: diarreas crónicas, trastornos funcionales digestivos (cualquiera de las formas definidas según los criterios consignados con el término genérico "Criterios de Roma"⁷ y estomatitis aftosa recurrente (EAR).

El estudio se realizó en dos fases: en la primera se determinó en el suero de los pacientes la presencia de anticuerpos antitransglutaminasa tisular (AATGt) - HeberFast Line anti-transglutaminasa producido por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de Sancti Spiritus y registrado por el CECMED con el Registro Sanitario DO702-03-, se utilizó una tira inmunocromatográfica para IgG e IgA de flujo lateral que utiliza la transglutaminasa de cobayo; para el ensayo se colocó la cantidad de suero del paciente recomendada por los productores en la tira reactiva y se esperó por el resultado, cuya lectura se realizó visualmente en 15 minutos -operativamente, la prueba fue positiva (presencia de AATGt) cuando aparecieron dos marcas coloreadas en la tira reactiva; una sola marca significó un resultado negativo (figura 1). La segunda fase consistió en realizar

esofagogastroduodenoscopia y toma de muestras para la evaluación microscópica de la mucosa intestinal y frotis parasitológico. Los resultados histopatológicos se definieron según dos categorías: a) histología característica de EC cuando el informe anatomopatológico del paciente describió presencia de atrofia de las vellosidades duodenales (parcial, moderada o total), hiperplasia de las criptas y conteo superior a 40 linfocitos intraepiteliales por cada 100 enterocitos, todo lo que se corresponde con la clasificación de Marsh modificada por Oberhuber 3a, 3b y 3c⁸ y b) la ausencia de las particularidades previamente citadas definió el término de histología no característica de EC.

Determinación negativa



Determinación positiva



Figura 1. Determinación del anticuerpo antitransglutaminasa tisular

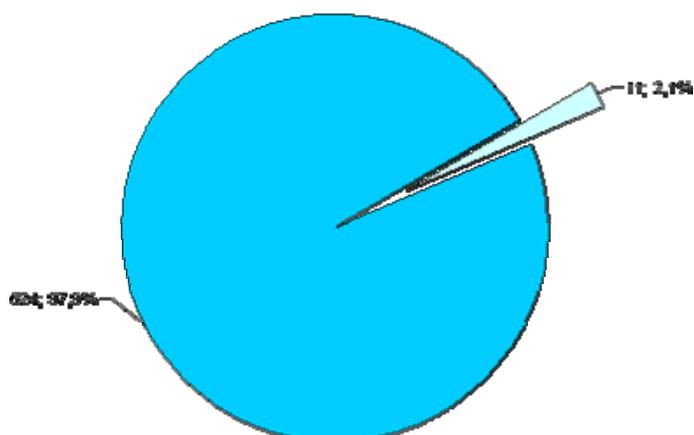
Los datos obtenidos fueron llevados a una base de datos SPSS 11.0 para Windows. Se realizó un análisis estadístico descriptivo con medidas de resumen para variables cualitativas y para la evaluación de la utilidad diagnóstica de los AATGt, se tomó como criterio de verdad o de oro el resultado de la histopatología, se calcularon la sensibilidad y la especificidad. Se presentaron también los intervalos de confianza de 95% para dichos indicadores de la bondad de una prueba.

Para evitar sesgos el análisis del suero y de la biopsia duodenal se hizo de manera independiente; es decir, el Especialista en Anatomía Patológica nunca supo el resultado del suero y los que analizaron este último desconocían en ese momento el resultado de la biopsia.

Para determinar la concordancia entre los resultados de la prueba y el criterio de verdad se calculó el estadígrafo Kappa de Cohen con su respectivo intervalo de confianza de 95% y se realizó una prueba de hipótesis para probar que Kappa sea significativamente diferente de 0. Se fijó un nivel de significación de 0.05.

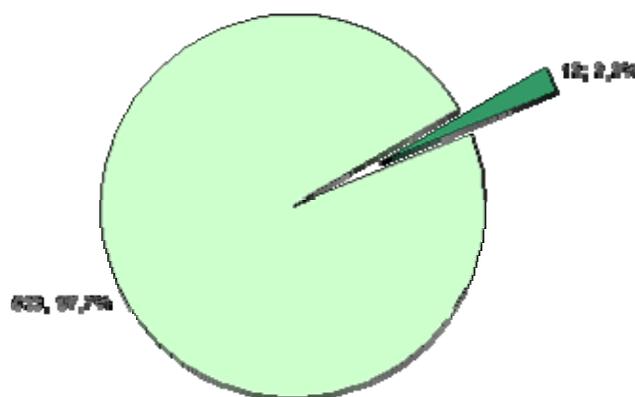
RESULTADOS

En este trabajo 11 pacientes resultaron positivos a la determinación de AATGt, lo que representó 2.1% de la serie (figura 2).



□ Positivos □ Negativos

Figura 2. Distribución de pacientes según resultados de los anticuerpos antitransglutaminasa tisular



■ Histología característica □ Histología no característica

Figura 3. Distribución de los pacientes investigados según hallazgos anatomopatológicos de la mucosa duodenal

La figura 3 ilustra, de forma general, los hallazgos anatomopatológicos de la mucosa duodenal en los pacientes investigados. De los 535 niños y adolescentes pesquizados 12 (2.2%) fueron diagnosticados como celíacos al mostrar los hallazgos característicos en la biopsia duodenal. En la tabla 1 se desglosa la distribución de los pacientes diagnosticados de EC según hallazgos anatomopatológicos (Marsh-Oberhuber); de los 12 niños siete clasificaron en Marsh 3c y cinco en Marsh 3b; no se detectaron pacientes para incluir como Marsh 3a.

Tabla 1. Distribución de los pacientes con EC según hallazgos anatomopatológicos característicos

Tipo de lesión anatomopatológica	No.	%
Marsh 3c	7	58.3
Marsh 3b	5	41.7
Marsh 3a	0	0.0
Total	12	100

Fuente: Historias clínicas

Al precisar si existió concordancia entre los diagnósticos serológicos (AATGt) e histopatológicos del duodeno (tabla 2) es notable que de los 11 pacientes positivos para AATGt, nueve (75%) tuvieron una biopsia característica de celiaquía; por su parte, de los 524 enfermos con serología negativa, la mayoría (521; 99.6%) no tuvieron hallazgos histopatológicos característicos. Estos resultados se corroboran con el valor del estadígrafo Kappa, el que fue de 0.78 y significativamente diferente de cero ($p < 0.001$), lo que se traduce en buena concordancia.

La sensibilidad y la especificidad de los AATGt encontradas en este trabajo fue de 0.75 (75%) y 0.99 (99%) respectivamente.

Tabla 2. Pacientes estudiados según los diagnósticos serológicos e histopatológicos del duodeno

AATGt	Histopatología				Total	
	Característica		No. característica		No.	%
	No.	%	No.	%		
Positivos	9	75.0	2	0.4	11	2.1
Negativos	3	25.0	521	99.6	524	97.9
Total	12	100	523	100	535	100

$K=0.78$ $p < 0.001$ IC 95% (0.5885-0.9672)

Fuente: Historias clínicas

DISCUSIÓN

En el espectro clínico común de la EC en la edad pediátrica aun predominan los síntomas digestivos, aunque no siempre son tan evidentes o clásicos.^{9,10} Esta es la razón por la que, para el Pediatra, la presencia de quejas en la esfera gastrointestinal durante un período prolongado, le obligue a la pesquisa de esta enfermedad.

Ante la sospecha clínica de EC es perentorio investigar su existencia. En este contexto, de los marcadores serológicos disponibles en nuestro medio, los AATGt resultan los más fiables. Estos aparecen en una relación proporcional al daño de la mucosa en los pacientes celíacos y están dirigidos contra una enzima de expresión ubicua que se libera tras un daño tisular, por lo que son sumamente útiles.¹¹

La positividad para AATGt en esta investigación es similar a la comunicada en otros estudios.^{12,13} El hecho de que se haya utilizado este marcador serológico para el pesquizado está avalado por otros autores que también consideran que los mismos son la primera línea de diagnóstico para EC y que, por sí solos, son lo suficientemente fieles como para ser usados como única investigación serológica en el escrutinio.

Resultados superiores a los de este trabajo se recogen en el trabajo de Lagerqvist y colaboradores,¹⁴ que estudiaron a 428 niños en Suecia con positividad para 385 (90%), lo que resulta obvio, dado que dicha investigación proviene de un país de alta prevalencia de celiaquía, lo que a su vez está justificado por factores etnogenéticos. Por otra parte, hay áreas geográficas con baja prevalencia, incluso con resultados inferiores a los nuestros donde se ha encontrado solo 1% de positividad.¹⁵

Más allá de comparaciones y disquisiciones estadísticas, tanto este trabajo como los previamente reseñados, se confirma el valor de los AATGt como método de selección inicial en los niños con sospecha diagnóstica y que deben realizarse una biopsia intestinal para una mejor evaluación de su cuadro.

La biopsia de yeyuno (duodeno distal) es, hasta hoy día, la regla de oro para el diagnóstico de EC porque es la única que, realizada correctamente, garantiza la existencia de daño mucosal, caracterizado típicamente por una atrofia total o subtotal de las vellosidades intestinales, así como la presencia de un marcado edema de la lámina propia con intenso infiltrado linfoplasmocitario de la misma. No obstante, los criterios diagnósticos de EC han sufrido variaciones con el decursar del tiempo^{1,2} y las investigaciones de los últimos años han ilustrado, de forma mucho más específica, los cambios que ocurren a nivel histológico más allá de la simple atrofia vellositaria o "mucosa plana". Hoy está bien establecido que se requieren al menos dos alteraciones adicionales para sugerirse el diagnóstico: la hiperplasia críptica y la hiperlinfocitosis intraepitelial, pero estos hallazgos no son patognomónicos y pueden constatarse en otros síndromes malabsortivos, lo que muchas veces hace difícil el diagnóstico diferencial.

Más recientemente varios expertos¹⁶ han demostrado que, desde el punto de vista endoscópico, también pueden observarse alteraciones duodenales que sugieren el diagnóstico, pero en nuestra opinión el valor de dichos hallazgos debería interpretarse en relación con el caudal de experiencia del endoscopista en la atención y manejo de celíacos, lo que consecuentemente, hace poco factible tener en cuenta dichos aspectos en áreas donde el diagnóstico de EC no es frecuente, como en Cuba.

A pesar de todo esto, desde la aparición en el mercado de los métodos serológicos para complementar el diagnóstico, algunos han sugerido que estas pruebas podrían sustituir a la biopsia intestinal, lo que se considera un grave error, ya que la sensibilidad y la especificidad de estos exámenes es muy variable de un laboratorio a otro y existen casos de falsos positivos y negativos. En la actualidad, el valor principal de los marcadores inmunes radica en ayudar a la selección previa de aquellos pacientes con posibilidad de padecer EC, a controlar el cumplimiento de la dieta y a seleccionar el momento idóneo para repetir la biopsia en caso de dudas o tras provocación con gluten (tercera biopsia) cuando sea necesario.

Como se esperaba, la mayoría de los pesquisados en esta investigación no mostraron en la biopsia los elementos característicos de EC. En un estudio similar realizado por Carmack y colaboradores¹⁷ solo una pequeña proporción de sospechosos de EC (23%) presentaron Marsh 3a, b, o c. Lurz y colaboradores¹⁸ publicaron, en el año 2009, los resultados de su investigación en 206 niños suizos con sospecha de EC basada en síntomas clínicos y positividad de la serología; tuvieron biopsia confirmatoria en 94 (46%), cifras que distan mucho de nuestros resultados, lo que guarda estrecha relación con aspectos demográficos y quizá otros factores aun no identificados.

En relación con los dos casos positivos para AATGt y con histopatología no característica de celiaquía, deben seguirse sistemáticamente puesto que pudieran ser pacientes con formas latentes en los que la serología es positiva con mucosa no patológica si ingieren gluten, pero tendrán en el futuro una enteropatía sensible a dicha proteína; clínicamente estas personas pueden ser sintomáticas o asintomáticas y, aunque la biopsia es normal, si se fenotiparan los linfocitos intraepiteliales estos presentarían incremento en la densidad de los que expresan receptores gamma delta (TcR $\gamma\delta$).^{1,6} Obviamente, para el diagnóstico de certeza de estos enfermos, resultaría sumamente útil la determinación de HLA-DQ2/8, pero estos estudios no están disponibles en nuestro país.

La explicación para la negatividad de los AATGt en los tres casos que resultaron celíacos pudiera radicar en el tiempo de exposición al gluten y las cantidades consumidas del mismo, puesto que se ha documentado la relación entre estos

factores, la expresividad serológica y el daño histopatológico.¹⁹ Otra posibilidad es que las muestras obtenidas hayan coincidido con áreas poco afectadas como también se ha descrito, puesto que las lesiones son, en ocasiones, no uniformes, o sea, se disponen "en forma de parches", fundamentalmente en adultos, pero en niños no hay evidencias relacionadas con este patrón "a saltos" de la mucosa intestinal; no obstante, aun quedan muchas cuestiones por dilucidar en este campo para los más avezados expertos.

Si bien la baja frecuencia de EC obtenida en nuestro estudio difiere de las comunicadas en varias publicaciones consultadas, es imposible realizar comparaciones francamente objetivas ya que estas investigaciones provienen de países europeos y de Estados Unidos (con alta prevalencia de la enfermedad), mientras que en nuestro país aun se desconoce la prevalencia real de esta enfermedad.

Los altos valores de sensibilidad y especificidad de los AATGt encontrados en este trabajo demuestran la adecuada eficacia o exactitud diagnóstica de estos marcadores serológicos, comparable con el estudio de Lurz y su equipo¹⁸ que examinaron el valor diagnóstico de las pruebas serológicas en 206 niños con sospecha de celiaquía.

Carroccio y colaboradores,²⁰ de la Universidad de Palermo, en Italia, compararon la sensibilidad y la especificidad de AATGt en 130 pacientes con sospecha de EC; en 15 enfermos se verificó atrofia total o subtotal, así como anticuerpos positivos. En comparación con nuestro trabajo la sensibilidad fue similar (66%), pero la especificidad fue inferior (90%), lo que avala la eficacia del producto cubano HeberFast Line anti-transglutaminasa, producido por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología de la Provincia de Sancti Spíritus para confirmar el diagnóstico de EC (alta especificidad).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bravo C. II Simposio Internacional sobre enfermedad celíaca. En: Congresos y jornadas. Rev Mazorca. 2007;(24):14-7.
2. Sánchez Pérez MP, Cervantes Bustamante R, Montijo barrios E. Actualidades en enfermedad celíaca. Rev Enfermed Infec Ped [Internet]. 2007 [citado 11 Ene 2008]; 16(7). Disponible en: http://www.enfermedadesinfeciosas.com/index2php%3foption=com_content&do-pdf=;&id=5
3. Tully MA. Pediatric celiac disease. Gastroenterol Nurs. 2008;31(2):132-40.
4. Catassi C, Kryszak D, Louis-Jacques O, Duerksen DR, Hill I, Crowe SE, et al. Detection of Celiac disease in primary care: a multicenter case-finding study in North America. Am J Gastroenterol. 2007;102(7):1454-60.
5. Altıntaş E, Senli MS, Sezgin O. Prevalence of celiac disease among dyspeptic patients: a community-based case-control study. Turk J Gastroenterol. 2008;19(2):81-4.
6. Szaflarska-Popławska A, Parzecka M, Müller L, Placek W. Screening for celiac disease in Poland. Med Sci Monit. 2009;15(3):7-11.
7. Zolezzi Francis A. Las Enfermedades Funcionales Gastrointestinales y Roma III. Rev Gastroenterol Perú. 2007;27:177-84.
8. Oberhuber G, Granditsch G, Vogelsang H. The histopathology of celiac disease: Time for standardized report scheme for pathologists. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1999;11:1185-94.
9. Hutchinson JM, Robins G, Howdle PD. Advances in coeliac disease. Curr Opin Gastroenterol. 2008;24(2):129-34.
10. Roma E, Panayiotou J, Karantana H, Constantinidou C, Siakavellas SI, Krini M, et al. Changing pattern in the clinical presentation of pediatric celiac disease: a 30-year study. Digestion. 2009;80(3):185-91.
11. Collin P, Kaukinen K, Vogelsang H, Korponay-Szabó I, Sommer R, Schreier E, et al. Antiendomysial and antihuman recombinant tissue transglutaminase antibodies in the diagnosis of coeliac disease: a biopsy-proven European multicentre study. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2005;17(1):85-91.
12. Rostami Nejad M, Rostami K, Pourhoseingholi MA, Nazemalhosseini Mojarad E, Habibi M, Dabiri H, et al. Atypical presentation is dominant and typical for coeliac disease. J Gastrointestin Liver Dis. 2009;18(3):285-91.
13. Hill PG, McMillan SA. Anti-tissue transglutaminase antibodies and their role in the investigation of coeliac disease. Ann Clin Biochem. 2006;43(Pt 2):105-17.
14. Lagerqvist C, Dahlbom I, Hansson T, Jidell E, Juto P, Olcén P, et al. Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2008;47(4):428-35.

15. Akbari MR, Mohammadkhani A, Fakheri H, Javad Zahedi M, Shahbazkhani B, Nourai M, et al. Screening of the adult population in Iran for coeliac disease: comparison of the tissue-transglutaminase antibody and anti-endomysial antibody tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2006;18(11):1181-6.
16. Matysiak-Budnik T, Coron E, Mosnier JF, Le Rhun M, Inoue H, Galmiche JP. In vivo real-time imaging of human duodenal mucosal structures in celiac disease using endocytoscopy. *Endoscopy.* 2010;11(1):55-9.
17. Carmack SW, Genta RM. The diagnostic value of the duodenal biopsy: A clinicopathologic analysis of 28,000 patients. *Dig Liver Dis.* 2009;3(1):233-9.
18. Lurz E, Scheidegger U, Spalinger J, Schöni M, Schibli S. Clinical presentation of celiac disease and the diagnostic accuracy of serologic markers in children. *Eur J Pediatr.* 2009;168(7):839-45.
19. Freeman HJ. Pearls and pitfalls in the diagnosis of adult celiac disease. *Can J Gastroenterol.* 2008;22(3):273-80.
20. Carroccio A, Di Prima L, Falci C, Le Moli C, Soresi M, Montalto G, et al. Predictive value of serological tests in the diagnosis of celiac disease. *Ann Ital Med Int.* 2002;17(2):102-7.

DE LOS AUTORES

1. Especialista de II Grado en Gastroenterología. Profesor Auxiliar de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara. E-mail: gastinf@hped.vcl.sld.cu.
2. Especialista de I Grado en Gastroenterología. Profesor Asistente de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara. E-mail: william.hernandez@vcl.ismet.cu.
3. Especialista de I Grado en Gastroenterología. Profesor Instructor de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara. E-mail: mlara@hped.vcl.sld.cu.
4. Especialista de I Grado en Anatomía Patológica. Profesora Instructora de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara. E-mail: morenom@cvc.sld.cu.
5. Especialista de I Grado en Bioestadística. Profesor Auxiliar de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Máster en Salud Pública. E-mail: teosmin@infomed.sld.cu.
6. Especialista de I Grado en Medicina General Integral. Profesora Instructora de la Universidad de Ciencias Médicas "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz" de Villa Clara.