

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Licenciadas en Ciencias de
la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico

TÍTULO:

“RELACIÓN DE LA ERITROSEDIMENTACIÓN Y PROTEÍNA C REACTIVA
CON LA FERRITINEMIA EN ESCOLARES DE 8-12 AÑOS DE LA UNIDAD
EDUCATIVA SIMÓN RODRÍGUEZ DE LICÁN”

Autoras: VALERIA MISHEL OROZCO ANDRADE
CARLA ANGIE TOALOMBO GARCIA

Tutor: Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

Riobamba - Ecuador

Año 2018

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: RELACIÓN DE LA ERITROSEDIMENTACIÓN Y PROTEÍNA C REACTIVA CON LA FERRITINEMIA EN ESCOLARES DE 8-12 AÑOS DE LA UNIDAD EDUCATIVA SIMÓN RODRÍGUEZ DE LICÁN, presentado por Orozco Andrade Valeria Mishel y ToalomboGarcía Carla Angie, dirigida por: Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

PhD. Liliana Araujo
Presidenta del Tribunal


.....
Firma

Mgs. Paúl Parra
Miembro del Tribunal


.....
Firma

Lic. Eliana Martínez
Miembro del Tribunal


.....
Firma

DECLARACIÓN DE LA TUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo, Mgs. Carlos Ivan Peñafiel Méndez en calidad de tutor en el proyecto de tesis con el tema: “Relación de la eritrosedimentación y proteína C reactiva con la ferritinemia en escolares de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán”, propuesto por las señoritas Valeria Mishel Orozco Andrade y Carla Angie Toalombo García egresadas de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Facultad de Ciencias de la Salud. Luego de haber realizado las debidas correcciones certifico que se encuentran aptas para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a las interesadas hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



.....
Mgs. Carlos Iván Peñafiel Méndez

DOCENTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

“La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Graduación, nos corresponde exclusivamente a: OROZCO ANDRADE VALERIA MISHEL Y TOALOMBO GARCIA CARLA ANGIE.

Director del proyecto: Mgs. IVÁN PEÑAFIEL; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



.....
Orozco Andrade Valeria Mishel
C.I. 0603211988



.....
Toalombo García Carla Angie
C.I. 0604135244

AGRADECIMIENTO

Mi profundo agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo, al igual que sus docentes quienes compartieron su valioso tiempo y conocimientos en todo momento, por tal motivo no podría dejar pasar por alto mi gratitud.

Orozco Valeria

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Chimborazo, porque en sus aulas recibí el conocimiento intelectual y humano que hoy poseo, a mis maestros quienes me brindaron sus conocimientos sin reserva y se convirtieron en los mejores mentores.

Toalombo Carla

DEDICATORIA

Quiero dedicar mi trabajo de titulación a Dios y a mis padres por darme la vida y enseñarme a no darme por vencida nunca, por su esfuerzo y apoyo incondicional siempre; en especial a mi madre quien con su comprensión ha sido mi fortaleza.

Orozco Valeria

DEDICATORIA

Mi proyecto de titulación se lo dedico a mi madre pues ella fue el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, sentó en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación. A mí amada hija por ser mi fuente de motivación e inspiración. A mis hermanos que es lo mejor y más valioso que Dios me ha dado.

Toalombo Carla

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA	4
Reactante de fase aguda	4
Velocidad de sedimentación globular	5
Proteína C reactiva.....	7
Ferritina sérica	8
Elisa	11
Equipo elisys duo human	11
METODOLOGÍA.....	14
Tipo de investigación.....	14
Corte.....	14
Carácter	14
Población	14
Muestra	15
Instrumentos de la investigación.....	15
Procedimientos.....	15
Análisis de datos	17
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES.....	25
RECOMENDACIONES	26
BIBLIOGRAFÍA	27
ANEXOS	29

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Valores elevados de VSG.....	6
---	---

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Participantes del proyecto según las edades.....	18
Gráfica 2. Escolares que participan en el proyecto según su género.....	19
Gráfica 3. Correlación de la velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva con la ferritinemia.....	22
Gráfica 4. Ferritinemia de acuerdo a la clasificación de la proteína C reactiva.....	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables expresadas en Medias, desviación estándar y porcentaje.....	20
Tabla 2. Proteína C reactiva y velocidad de sedimentación globular según la clasificación de la ferritinemia.....	21

RESUMEN

Esta investigación tiene como objetivo evaluar reactantes de fase aguda en los estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán de Riobamba; El estudio se realizó en pacientes con edades comprendidas entre 8 y 12 años, en una población de 180 escolares, se recolectaron muestras de sangre, las cuales se tomaron con las debidas normas de bioseguridad y el respectivo consentimiento informado de los representantes legales de los estudiantes; luego las muestras biológicas fueron transportadas de manera adecuada para procesarlas en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Chimborazo, donde se realizaron exámenes hematológicos, serológicos y bioquímicos. Se realizó un análisis estadístico descriptivo univariante mediante la prueba de chi cuadrado para comprobar la relación existente entre las pruebas de Eritrosedimentación, Proteína C reactiva en Ferritinemia. Se utilizó un nivel de significancia $p < 0.05$ en todas las pruebas con un intervalo de confianza al 95%. Los resultados muestran que no existe relación estadísticamente significativa entre eritrosedimentación y Ferritina sérica. Al relacionar únicamente Velocidad de sedimentación globular con ferritina no se encontró relación estadísticamente significativa y en el caso de Proteína C reactiva positiva fue mayor la concentración de ferritina en suero dentro del rango de los valores normales; por lo que establece que no hay relación estadísticamente significativa. Por tal motivo se concluyó que no existe una relación entre estas variables y ferritina sérica.

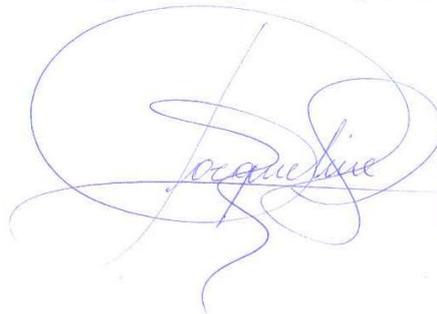
PALABRAS CLAVE: ERITROSEDIMENTACIÓN, FERRITINEMIA, PROTEÍNA C REACTIVA,

ABSTRACT

This research aims to evaluate acute phase reactants in students of the Simón Rodríguez de Licánde Riobamba Educational Unit. The study was conducted in patients from 8 to 12 years old. There were 180 schoolchildren. Their blood samples were collected, which were taken with the proper biosafety regulations and the respective informed consent of the legal representatives of the students; Then the biological samples were transported in a suitable parametric way, towards Research Laboratory of the Faculty of Health Sciences, of the National University of Chimborazo, where hematological, serological and biochemical tests were carried out. A unilabiate descriptive statistical analysis was performed using the square text test to verify the relationship between the tests of erythrocyte sedimentation, C-reactive protein and Ferritinemia. A level of significance $p < 0.05$ was used in all tests with a confidence interval of 95%. The results show that there is no statistically significant relationship between erythrocyte sedimentation and serum Ferritin. When only the erythrocyte sedimentation rate was related to ferrite, it was not statistically significant to the case of positive C-reactive protein for serum ferritin concentration within the range of normal values; so it states that there is no statistically significant relationship. For this reason it was concluded that there is no relationship between these variables and serum ferritin.

Key words: eritrosedimentation, ferritinemia, c reactive protein.

Reviewed and corrected by: Lic. Jacqueline Armijos, MsC.



INTRODUCCIÓN

Las reseñas de inflamación datan hace 3500 años atrás, en los papiros encontrados del galeno Romano Cornelius Celsus, quien define a la inflamación en 4 estados elementales: dolor, calor, rubor y tumor ⁽¹⁾. La proteína de respuesta de fase aguda que aumenta en el proceso de inflamación es la ferritina de manera que deja de representar los almacenamientos de hierro, esto obstaculiza la interpretación de concentraciones estándar y superiores de ferritinemia en sectores en la cual los padecimientos infecciosos o inflamatorios son habituales ⁽²⁾. La Pediatría en este último período ha aumentado la vigilancia a niños con patologías crónicas. Se engloban a un grupo como el asma bronquial, la malnutrición, la epilepsia, la diabetes mellitus, infecciones respiratorias crónicas ⁽³⁾. El asma es una patología crónica que usualmente se presenta en los niños la cual implica la inflamación y la constricción de los accesos que transportan el aire a los pulmones, 235 millones de personas la presentan, la OMS notificó que en el año 2015 existieron 383 000 muertes por asma a nivel mundial ⁽⁴⁾. Las estadísticas del Instituto Ecuatoriano de Estadística y Censos (INEC), en el 2010 se registraron en el país 3.275 casos de asma. El Hospital General Pediátrico Provincial Docente de Riobamba, realizó un estudio de casos de asma bronquial, se trabajó con 96 niños cuyos resultados establecieron que los elementos predisponentes en una crisis de asma asociados a infecciones respiratorias fueron: neumonía en un 100%, y factores ambientales un 63.5% ⁽⁵⁾.

En zonas de baja prevalencia la ferritina y el receptor soluble de la transferrina permiten determinar la situación nutricional con respecto al hierro en las poblaciones porque el receptor de la transferrina no aumenta en respuesta a la inflamación. Por el contrario en zonas de alta prevalencia es complicado definir la carencia de hierro utilizando sólo la ferritinas es por ello que en enfermedades infecciosas estacionales el análisis se debe ejecutar en el período de mínima transmisión y para facilitar la interpretación de las concentraciones de ferritina se efectúa la cuantificación de la proteína C reactiva y la α 1-glucoproteína ácida. En ciertos lugares y rangos de edad en los que la presencia de inflamación es casi en su totalidad por lo que la diferencia puede disminuir la prevalencia de ferropenia fundamentadas en los valores de ferritina. Es un trabajo por concluir el diferenciar qué proteínas de fase aguda

pueden ser de mayor utilidad para interpretar los resultados de ferritinemia, con el propósito de corregir y no de eliminar los valores obtenidos en estas situaciones ⁽⁶⁾.

Las proteínas plasmáticas que sufren alteraciones durante la inflamación, se conocen como reactantes de la fase aguda. Este grupo proteico juega un importante papel en el complejo proceso de la inflamación. Los cambios en su concentración plasmática, responden a un aumento en la síntesis por parte del hígado, no permiten conocer ni la ubicación, ni las causas de la reacción inflamatoria puesto se elevan en tiempos diferentes pero constituyen una excelente herramienta. La proteína C reactiva fue poco utilizada durante muchos años; en la actualidad constituye una valiosa herramienta como marcador inflamatorio en las enfermedades reumatológicas de origen inmunológico. A pesar de que muchos estudios hacen referencia a los reactantes de fase aguda como eritrosedimentación, proteína C reactiva (PCR) y ferritina para ayudar en la detección de inflamación en proceso, aguda o crónica, existe escasa literatura acerca de la confiabilidad de estas pruebas en el diagnóstico y la manera de la que se verán influenciados por factores externos. Se han descrito, así mismo, valores elevados de eritrosedimentación y PCR en el contexto de una inflamación como infecciones respiratorias crónicas, puesto que en este último periodo va en aumento en pediatría. Del mismo modo, no queda claro si determinadas variables dentro de las proteínas reactantes de fase aguda como la ferritina se ve alterada en procesos inflamatorios ⁽⁷⁾. Es por tal motivo que nace la incógnita ¿Existirá relación entre la Eritrosedimentación y Proteína C reactiva con la Ferritinemia en escolares de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán?

En la actualidad no existen otras investigaciones sobre la posible relación entre los reactantes de fase aguda con valores de ferritinemia. Es por tal motivo que el presente proyecto de investigación permite indagar si existe o no esta relación en niños de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán, por lo que es necesario realizar las pruebas de laboratorio correspondientes mediante análisis hematológicos, serológicos y bioquímico, útil para determinar procesos inflamatorios e infecciosos y por ende la estrecha relación entre los mismos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Relacionar la Eritrosedimentación y Proteína C reactiva con la Ferritinemia en escolares de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán en el período Noviembre 2017-Febrero 2018.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la velocidad de sedimentación globular en sangre total en niños de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.
2. Identificar procesos inflamatorios por medio de la determinación de proteína C reactiva en muestras sanguíneas de escolares de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.
3. Dosificar la ferritina en suero sanguíneo en niños de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.
4. Relacionar los valores de ferritina con eritrosedimentación y proteína C reactiva de las pruebas analizadas.

ESTADO DEL ARTE RELACIONADO A LA TEMÁTICA

REACTANTE DE FASE AGUDA

Los reactantes de fase aguda revelan que existe una inflamación en desarrollo, aguda o crónica, induciendo cambios en las concentraciones en las proteínas aumentando o disminuyendo un 25% durante la inflamación o en procesos crónicos. Los principales componentes que intervienen en la inflamación son: el sistema de complemento, las proteínas de coagulación y el fibrinógeno. Ante este estímulo inflamatorio o infecciones bacterianas sistémicas o virales, se liberan una cadena de citocinas estas son: Las interleucinas 1, 6,8 (IL-1, 6, 8) y el factor de necrosis tumoral (TNF- α). Las proteínas de fase aguda, que elevan su concentración, se las conoce como “reactantes positivos”, son producidas y secretadas por macrófagos, células endoteliales, monocitos activados ⁽⁸⁾.

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS REACTANTES DE FASE AGUDA (RFA)

Los RFA son sintetizados en el hígado excepto las inmunoglobulinas y hormonas proteicas. En múltiples patologías se altera la proporción y cantidad de estas proteínas en los líquidos corporales sucede en reacciones inflamatorias que surgen durante la evolución del infarto del miocardio, tumores, infecciones después de intervenciones quirúrgicas y enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide ⁽¹⁾. Este grupo de proteínas ejerce un papel significativo en el complejo proceso de la inflamación. Las alteraciones en su concentración, manifiestan un aumento en la síntesis del hígado sin determinar la ubicación ni causa de la reacción pero forma una excelente herramienta para el control evolutivo en el avance o desaparición de la afección y por ende la eficiencia de la medicación impuesta ⁽⁹⁾.

MARCADORES DE AFECCIONES INFLAMATORIAS

En hematología los incrementos en la concentración leucocitaria con predominio de neutrófilos claramente indican una infección aguda. En la mayoría de las afecciones de inflamación aguda se encuentran elevados los niveles de proteínas de fase aguda.

Estas proteínas se encuentran en las regiones α -antitripsina, la α -macroglobulina y β incluyendo la ferritina y la PCR del electroforetograma de proteínas séricas. Es así que las determinaciones de PCR en suero son muy útiles para el reconocimiento de estados de inflamación aguda. La concentración de plaquetas suele aumentar por lo que también las se han considerado como proteínas de fase aguda. Además en las afecciones inflamatorias tanto agudas como crónicas, los eritrocitos presentan un aumento de su movilidad produciendo un incremento de la velocidad de sedimentación de los eritrocitos⁽¹⁰⁾.

VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN GLOBULAR

La sedimentación se debe a la tendencia de agregarse en forma de columnas de monedas los eritrocitos como consecuencia de un proceso reversible electroquímico. Los eritrocitos poseen carga negativa en su superficie, que hace que se repelen entre sí, dando como resultado una velocidad de sedimentación inferior a 10 milímetros por hora. Al contrario las condiciones asociadas con procesos inflamatorios que cambian el potencial zeta favorecen el fenómeno de Rouleaux e incrementan la VSG⁽¹¹⁾. Son diferentes factores que afectan a la VSG entre los que resaltan morfología eritrocitaria, temperatura, hemólisis o el tiempo ocurrido desde la extracción. Esto puede presentar ciertas limitaciones en el proceso diagnóstico de situaciones patológicas dado que se ve afectada por múltiples variables. Si bien puede ofrecer una orientación hacia un diagnóstico, es necesario utilizar pruebas específicas para establecer una patología en concreto. La prueba de eritrosedimentación es inespecífica, por lo mismo ha perdido vigencia gradualmente en comparación a los reactantes de fase aguda, en concreto la proteína C reactiva para el diagnóstico y búsqueda de enfermedades infecciosas o inflamatorias de procedencia reumatológica, neoplásicas y cardiovasculares⁽¹¹⁾.

Es la prueba mas utilizada como indicador de actividad inflamatoria. Es sencilla, barata y resulta familiar a los clinicos. Es un método indirecto de estimar la concentracion de proteinas de fase aguda. Se consideran valores normales hasta 15mm en varones y 20mm en mujeres, valores que pueden aumentar hasta 40mm en la primera hora.

Se clasifica según su registro durante la primera hora:

Elevacion moderada hasta 50mm/hora

Alta: 50-100 mm/hora

Muy alta: >100 mm/hora.

CAUSAS MAS FRECUENTES DE ELEVACIÓN DE VSG

La elevación de la VSG es un signo objetivo de organicidad ya que los procesos funcionales no la modifican. Es indicativa de la actividad y de la intensidad de un proceso patológico. Tiene un buen valor pronóstico pues su determinación seriada nos puede indicar la evolución del proceso.

Sin embargo no hay que olvidar que la VSG es inespecifica pues no sirve para realizar un diagnóstico etiológico ya que se puede elevar en gran número de enfermedades orgánicas. Además su no elevación no supone ausencia de patología orgánica ya que hay procesos patológicos que no la modifican. Por otra parte, hay situaciones no patológicas que pueden inducir elevaciones de VSG: calor, anticonceptivos orales, embarazo, puerperio, menstruación, lactancia, etc⁽¹²⁾.

Ilustración 1. Valores elevados de VSG

<i>Valores de la VSG</i>	<i>Causas</i>
Elevación moderada: hasta 50 mm /h	Cuadros catarrales agudos, gripe, herpes zoster, gastroenteritis, brucelosis, anemia, embarazo, puerperio, menstruación, senectud, colecistitis, pielonefritis, lúes, bronquitis, endocarditis subaguda, salpingitis, artritis, úlcera gastroduodenal, mixedema, período postoperatorio.
Elevación alta: 50-100 mm/h	Polimialgia Reumática, Neumonías, endocarditis bacteriana, pleuritis, colecciones supuradas, amigdalitis supuradas, infecciones bacterianas crónicas, tuberculosis, sinusitis, otitis, cáncer de próstata no metastásico, leucemias crónicas, anemias hemolíticas, hepatopatías crónicas, fracturas.
Elevación muy alta: >100 mm/h	Fiebre reumática, sepsis, erisipela, pleuritis exudativa, kala-azar, colagenosis, enfermedades sistémicas autoinmunes, poliartritis, neoplasias malignas sobre todo metastásicas, mieloma múltiple, leucemias agudas y linfoma de Hodgkin.

(12)

Fuente: Ruiz R.A. Manual de diagnóstico y terapéutica médica en atención primaria Tercera edición pag 581-582. Tercera ed

UTILIDAD CLÍNICA DE VSG

La VSG es un marcador útil, aunque inespecífico de inflamación. Se produce un aumento fisiológico en el embarazo, con el envejecimiento y durante el crecimiento. Se observan aumentos moderados en muchos procesos como la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico, la anemia, las enfermedades infecciosas, el infarto de miocardio y las neoplasias. Los aumentos moderados se observan en las vasculitis, el mieloma múltiple y la macroglobulinemia de Waldenström⁽¹³⁾.

TÉCNICA DE VSG

Existen diversas técnicas; Wintrobe1 en 1974, describió el procedimiento como una regla de oro la cual es indispensable 1 ml de sangre venosa con anti coagulante ácido etilendiaminotetraacético EDTA. Esta se coloca en un tubo de Wintrobe: tubo de vidrio con un diámetro de 3 mm y graduado en mm en una escala de 0 a 10 cm y se deja reposar a temperatura ambiente durante una hora en un soporte para mantener la posición vertical; al término, se cuantifica la sedimentación en milímetros desde el borde superior del plasma hasta la base de las células⁽¹³⁾.

PROTEÍNA C REACTIVA

La PCR fue la primera proteína de fase aguda descrita y su nombre proviene de la habilidad de precipitar al polisacárido somático C del *Streptococcus pneumoniae*. Esta proteína es parte de la inmunidad innata es sintetizada como respuesta al estímulo del daño tisular provocado por infecciones, inflamación o neoplasias. Es sintetizada por hepatocitos y células del endotelio vascular y su expresión está regulada por citocinas, particularmente por la interleucina 6 y, en menor grado la interleucina 1 y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α). Pertenece a una familia de proteínas pentaméricas dependientes de calcio llamadas pentraxinas estas son proteínas que han subsistido a través de la evolución, con proteínas homologas entre especies filogenéticamente distante. Principia a las 6 horas después de iniciado el estímulo inflamatorio y alcanza su máximo a las 24–72 horas. Su vida media es relativamente corta (19 horas), pero su concentración plasmática es constante bajo cualquier condición y no se modifica con la ingestión de alimentos ni presenta variación circadiana, en contraste con las proteínas de la coagulación y otras de fase aguda. Una vez finalizado el estímulo de IL-6, la PCR regresa a valores normales al cabo de 7 días⁽¹⁵⁾.

CARACTERÍSTICAS DE LA PROTEÍNA C REACTIVA, EN EL GRUPO DE LOS RFA

El PCR reactante de fase aguda fue descubierta en el año 1930, en pacientes que presentaban neumococos y se llegó a la conclusión que podía unirse al polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae*, y producir floculación⁽⁸⁾. Es sintetizada por células del

endotelio y hepatocito vascular y es regulada por citocinas, particularmente por la IL 6 y, en menor grado, la IL1 y el factor de necrosis tumoral TNF α . Una vez finalizado el estímulo de IL-6, la PCR regresa a valores normales en el lapso de 7 días. Con esto, el índice de producción de la PCR es el único determinante de los niveles circulantes de la proteína, reflejando en forma directa la intensidad de los procesos patológicos que estimularon su síntesis⁽¹⁵⁾.

Esta proteína constituye el marcador de la inflamación por excelencia y tiene numerosas funciones como: iniciar la opsonización, la fagocitosis, la activación del complemento, de los neutrófilos y de los monocitos macrófagos⁽¹⁵⁾. Estas propiedades le permiten jugar un importante papel en el reconocimiento de organismos microbianos y como inmunomodulador en el huésped⁽¹⁶⁾.

Su concentración sérica normal suele ser de 100ng/ml en el momento del nacimiento, de 170 ng/ml durante la infancia y de 470ng/ml a 1.340 ng/ml en sujetos adultos. A pesar de estas bajas concentraciones, la PCR tiene gran importancia como reactante de fase aguda altamente sensible⁽¹⁷⁾.

TÉCNICA DE PCR

Prueba de proteína C reactiva su técnica es rápida de aglutinación para la detección directa y la semicuantificación de la proteína en suero. La determinación se realiza mediante una suspensión de látex que está recubierta con anticuerpos anti-PCR, frente a los sueros en estudio. La presencia de aglutinación es indicativa de un aumento del nivel de PCR por encima del límite superior del intervalo de referencia de las muestras ensayadas⁽¹⁸⁾.

Ver Anexo 4

FERRITINA SÉRICA

La ferritina sérica fue descubierta por el científico francés Leinberger en el año de 1937, pero fue en 1972 se demostró una correlación con la concentración total de hierro almacenado en el organismo como una proteína de almacenamiento tisular de hierro. En las enfermedades inflamatorias crónicas, infecciosas se elevan de 2 a 5 veces la ferritina se desarrolla en el transcurso de las primeras 24 horas.

En enfermedades prolongadas el hierro sérico se mantiene baja, por lo que la ferritina se eleva, para mantener los niveles de hierro normales en el organismo; así la ferritina oculta la situación actual del paciente⁽¹⁹⁾.

Los rangos normales de ferritina presenta una elevación en los valores en el sexo masculino, pacientes de raza afro ecuatoriana, también aumenta con la edad. No obstante, dentro de los valores normales entre niños de 6 meses a 16 años son entre 10 - 160 ng/ml⁽¹⁹⁾.

HIPERFERRITINEMIA

El aumento de ferritina se muestra en numerosas condiciones entre ellos: procesos inflamatorios, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, sepsis, síndrome de activación de macrófagos, síndrome de disfunción multiorgánica, entre otros. En pacientes con un estado crítico o crónico la hiperferritinemia está asociado con la gravedad de una enfermedad subyacente⁽¹⁹⁾.

Valores referenciales sospecha de:

10-50mg/dl: Inflamación viral o leve

50-200 mg/dl: Inflamación por infección bacteriana o activa

200 mg/dl: Infección severa o trauma⁽¹⁹⁾.

HIPOFERRITINEMIA

Hipoferritinemia significa la carencia de ferritina y cuando es acompañada de repercusiones clínicas se habla de una carencia de la concentración inferior; se la describe una desaparición de reservas lo cual va sucediendo gradualmente. Es la primera afectada y su normalización se realiza como último constituyente al corregir la afección⁽¹⁹⁾.

FERRITINA E INMUNIDAD

Es considerada un reactante de fase aguda, cuando existe presencia de inflamación eleva su concentración por lo bajo en 25%⁽¹⁰⁾. En enfermedades críticas consta la hiperferritinemia asociada con la gravedad de la patología. Los valores aumentados de ferritina están asociados con mayor probabilidad de mortalidad⁽¹⁴⁾. Es una proteína que

retrasa y regula la elaboración de anticuerpos por los linfocitos B, reduce la fagocitosis y normaliza la granulo monocitopoyesis. Demostrado in vitro con moléculas afines a H-ferritina como la cadena quimérica humana clonada de la placenta la cual elimina la mielopoyesis y activa células T, evidenciando que la H-ferritina tiene efectos inmunomoduladores significativos⁽¹⁹⁾.

El mecanismo de inmunomodulación no son conocidos a ciencia cierta pero se estima que están estrechamente ligados directa o indirecta con la vía de señalización de receptores de H-ferritina en los linfocitos y la disminución de la activación de CD2, actuando como cofactor para estimulación de linfocitos.

Además de este efecto de supresión y diferenciación sobre las células hematopoyéticas consta evidencia de que la H-ferritina realiza un importante papel en la señalización de receptores de citocinas y migración celular; la H-ferritina, tiene un receptor de retroalimentación negativa para citocina 4 (CXCR4) el cual al formar el complejo H-ferritina/CXCR4 impide la señalización y evita la activación de proteínas quinasa activadoras de mitogénesis (MAPK) y esta actividad quinasa es indispensable en la proliferación, diferenciación y migración celular.

Es de vital importancia diferenciar que esta función es independiente del contenido de hierro en la ferritina, lo que demuestra que la ferritina exógena tiene una función independiente de su papel principal como una proteína de unión y almacenamiento del hierro. Se ha demostrado que en tejidos con predominio de L-ferritina tienen la capacidad de activar las vías de señalización siendo un significativo mediador inflamatorio. También se ha propuesto que la ferritina tiene una estrecha relación en el desarrollo de estados fibrogénicos e inflamatorios crónicos de órganos como corazón, pulmón, riñón y páncreas, puesto que ellos tienen un espécimen celular similar al de los hepatocitos que tienen una respuesta de fibrogénesis a la inflamación⁽²⁰⁾.

La relación de hiperferritinemia y enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, esclerosis múltiple y síndrome antifosfolípidos. La importancia de la ferritina se ha corroborado con el descubrimiento de autoanticuerpos contra la ferritina en distintas enfermedades autoinmunes⁽²⁰⁾.

SEPSIS GRAVE Y CHOQUE SÉPTICO

El choque séptico se origina con manifestaciones de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica ligado a una infección activa. La hiperferritinemia ha estado asociada a estados

de respuesta inflamatoria y sepsis y se ha demostrado que valores aumentados de ferritina incitan mayor mortalidad; la hipercitocinemia pro y antiinflamatoria juegan el papel más importante en la fisiopatología de la sepsis alterando la regulación del sistema inmune y su respuesta inflamatoria y en la coagulación. El intercambio plasmático es tiene la capacidad de excluirintermediariosproinflamatorios, toxinas y niveles de ferritina ⁽¹⁹⁾.

ELISA

ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN ACOPLADO A ENZIMA

Es un conjunto de técnicas de detección de antígenos o anticuerpos basada en la absorción de proteínas a pocillos de una placa de plástico favoreciendo su capacidad de absorber proteínas en cada uno de los pocillos se puede incubar con soluciones revelando una reacción enzimática antígeno-anticuerpo la misma que cambia el color y se cuantifica por la absorbancia de luz de la muestra a una determinada longitud de onda. Se puede cuantificar por medio de una serie de diluciones patrón de concentración conocida en suero u otro fluido biológico se determina la máxima dilución del suero que titula ⁽²¹⁾.

EQUIPO ElisisDuo Human

Es un analizador ELISA completamente automatizado optimizado para segmento de rendimiento mediano hasta 3 placas simultáneamente, diseñado y fabricado en Alemania y Suiza.

Su software flexible y fácil de usar es de alta capacidad permite procesar 144 tipos de muestras y reactivos, permite lectura de código de barras, de alta precisión y seguridad de procesamiento.

La documentación del registro de eventos se almacena en un programa de control de QC. De acceso simple y control a través de iconos.

La documentación del registro de eventos permite la impresión opcional junto con los resultados, así como también la actualización gráfica permanente sobre el estado del ensayo y asignación de reactivos ⁽²²⁾.

TÉCNICA DE FERRITINA

Antes de proceder con el análisis llevar todos los reactivos, los sueros de referencia y los controles a temperatura ambiente (20-27°C).

1. Duplicar los pozos de la microplaca para cada suero de referencia, muestras de control y de paciente. Colocar las tiras de micro pozos nuevamente en la bolsa de aluminio, sellar y almacenarlo a 2-8°C.
2. Pipetear 0.025 ml (25µl) del suero de referencia apropiado, control o espécimen dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0.100ml (100µl) de Reactivo de Biotina Ferritina a cada pozo.
4. Revolver la microplaca ligeramente por 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración.
7. Adicionar 350µl de buffer de lavado, decantar o aspirar. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados.
8. Adicionar 0.100 ml de conjugado enzimático de Ferritina en cada pozo.

NO AGITE LA PLACA DESPUÉS DE LA ADICIÓN DE ENZIMA

9. Incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos
10. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración, Si se realiza decantación, golpee y seque la placa con papel absorbente.
11. Adicionar 300µl de buffer de lavado, decantar (golpe y secado) o aspirar. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados.
12. Adicionar 0.100 ml (100µl) de solución de Reactivo Señal a todos los pozos.

NO AGITE LA PLACA DESPUÉS DE LA ADICIÓN DE SUBSTRATO

13. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
14. Adicionar 0.050ml (50µl) de solución de parada en cada pozo y mezclar suavemente durante 15-20 segundos.
15. Leer la absorbancia en cada pozo a 450nm (usando una longitud de onda de referencia de 620-630nm para minimizar las imperfecciones de las pozos) en un lector de microplacas. Los resultados deben ser leídos después de treinta (30) minutos de haber adicionado la solución de paralización.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio ensayará los controles a niveles de inferior, medio y mayor nivel para el monitoreo del rendimiento del ensayo. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba realizado. Las tarjetas de control de calidad serán mantenidas en seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes serán empleados para acertar en las tendencias. La desviación significativa del rendimiento establecido puede indicar cambio no notificado en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos del kit. Los reactivos frescos serán usados para determinar la razón para las variaciones.

Valores de referencia

Según técnica de Ferritina casa comercial Accubind en niños de 6 meses a 16 años:

10 – 160 ng/ml ⁽²³⁾.

Ver Anexo 5

METODOLOGÍA

Diseño de la investigación

Tipo de investigación

La investigación es de tipo descriptivo porque se basó en un análisis mediante la descripción de la realidad de situaciones y observacional debido a que el investigador organiza la observación de datos de manera tal que le permita verificar o refutar la hipótesis.

Corte

La investigación es de corte Transversal puesto que se realizó en un tiempo concreto, en el que todos los sujetos están presentes y se encuentran en el mismo periodo de temporalidad.

Carácter

La investigación es de carácter Mixto en el cual se relacionó variables cualitativas y cuantitativas hechas en base a parámetro que se intentan establecer como posibles relaciones.

Población

Para esta investigación se trabajó con todo el universo de la población escolar constituida por 181 estudiantes con edades comprendidas de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Criterios de inclusión:

- Se trabajó con niños y niñas con consentimiento informado.
- Se trabajó con niños que colaboran totalmente en la toma de muestras sanguíneas.

Criterios de exclusión:

- Niños sin autorización del representante legal o padre de familia en el consentimiento informado
- Falta de colaboración de los niños en la toma de muestras.

Muestra

Se trabajó con una muestra de 172 escolares con consentimiento informado y colaboración total en la investigación que corresponde a los escolares de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Instrumentos de la investigación

Técnica: Análisis de laboratorio

Instrumento: Reportes de laboratorio

Mediante el análisis de laboratorio se recolectaron datos de fuentes secundarias como, fichas de ingresos e historias clínicas las mismas que aportaron información confiable como fuente de recaudación de datos sobre el paciente y las variables de interés.

Técnica: Análisis de resultados

Instrumento: Base de datos

Con la realización de una base de datos a partir de los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio se permitió relacionar estos resultados con pruebas complementarias y de diagnóstico facilitando la correlación clínica entre estos datos de laboratorio y clínica del paciente.

Técnica: Técnicas de laboratorio

Instrumento: Manuales y automatizadas

Para la realización del proyecto se implementó técnicas de análisis manuales en el caso de la Velocidad de sedimentación globular y Proteína C reactiva. En el caso de la determinación de ferritina sérica se utilizó técnicas automatizadas en el equipo ElisysDuo Human el cual utilizó el método de determinación ELISA.

Procedimientos

La investigación se realizó mediante métodos éticos, de laboratorio y estadísticos.

Se solicitó la autorización al Rector de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán la cual fue favorable para ejecutar el proyecto de investigación dando a conocer el

objetivo de estudio valorando a los escolares para determinar posibles patologías inflamatorias o infecciosas asociadas con la ferritinemia.

Se socializó con los padres de familia o representantes legales de los escolares obteniendo de manera voluntaria la firma del consentimiento informado, donde se notificó el procedimiento de toma de muestra y procedimientos metodológicos de investigación.

Se obtuvo las muestras sanguíneas de los estudiantes a primera hora de la mañana, las mismas fueron trasladadas en gradillas y coolers de forma inmediata al Laboratorio de investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Se analizó cada una de las muestras mediante determinaciones hematológicas, serológicas y bioquímicas ejecutando todas las normas de bioseguridad, análisis de laboratorio establecidos y control de calidad, así como también el reporte de resultados de las muestras estudiadas. Para finalmente realizar una base estadística obteniendo los datos necesarios y relacionándolos con nuestro objetivo de investigación.

ANÁLISIS MANUAL DE MUESTRAS

Determinación de Velocidad de sedimentación globular

Se homogenizó el tubo tapa lila con anticoagulante EDTA y se llenó el tubo Wintrobe alcance el enrase o la marca 0 mm.

Se colocó la pipeta en una gradilla de tal forma que se mantenga vertical. Mientras transcurre 1 hora exactamente.

Se leyó la distancia entre la superficie del menisco de la columna eritrocitaria y la parte superior de la columna que es plasma transparente el cual se mide en milímetros.

Finalmente se anotó los resultados obtenidos.

Valores normales

Hombres: hasta 15 mm/h en menores de 50 años

Mujeres: hasta 20 mm/h en menores de 50 años⁽¹³⁾.

TÉCNICA Proteína C Reactiva

Es una prueba rápida de aglutinación para la detección directa y la semicuantificación de la proteína C reactiva (PCR) en suero. La determinación se efectúa ensayando una suspensión de látex recubierto con anticuerpos anti-PCR, frente a los sueros problema.

La presencia de aglutinación es indicativa de un aumento del nivel de PCR por encima de 6mg/L del límite del intervalo de referencia de las muestras ⁽²⁴⁾. Ver Técnica de PCR en Anexo 2.

ANÁLISIS DE MUESTRAS AUTOMATIZADO

FERRITINA EN ELISA

ENSAYO DE INMUNOABSORCIÓN ACOPLADO A ENZIMA

Es una técnica de detección de antígenos o anticuerpos basada en la absorción de proteínas en pocillos de una placa plástica para incubarlas con soluciones revelando una reacción enzimática antígeno-anticuerpo la misma que cambia el color y se cuantifica por la absorbancia de luz de la muestra a una determinada longitud de onda ⁽²³⁾.

Ver técnica de Ferritina en Anexo 3

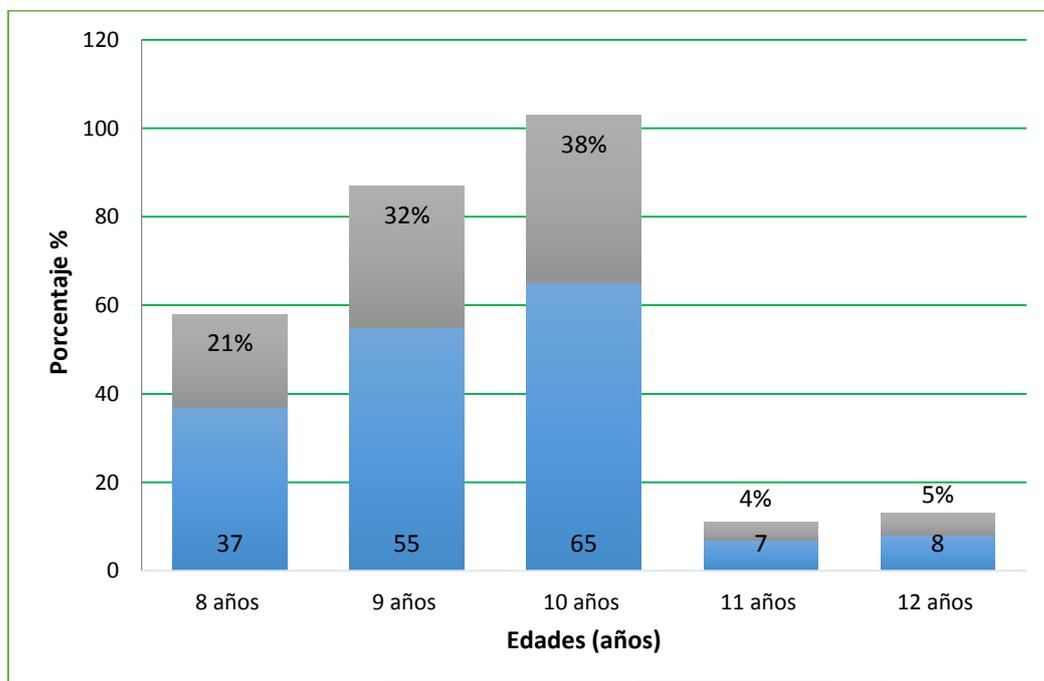
Análisis de datos

Se realizó una base de datos estadísticos para los resultados de los análisis clínicos para establecer la distribución de frecuencia que se encuentra asociada con cada variable.

Se realizaron cruces de variables utilizando la prueba de chi cuadrado para evidenciar la relación existente entre éstas. En este proyecto de investigación se utilizó un nivel de significancia < 0.05 de los cuales fueron utilizados en todas las pruebas con un intervalo de confianza al 95%. Para establecer una posible relación entre velocidad de sedimentación globular y PCR en ferritinemia se utilizó el programa Excel y SPSS en el cual se analizó e interpretó los resultados de los análisis clínicos realizados.

RESULTADOS

Gráfica 1. Participantes del proyecto según las edades.



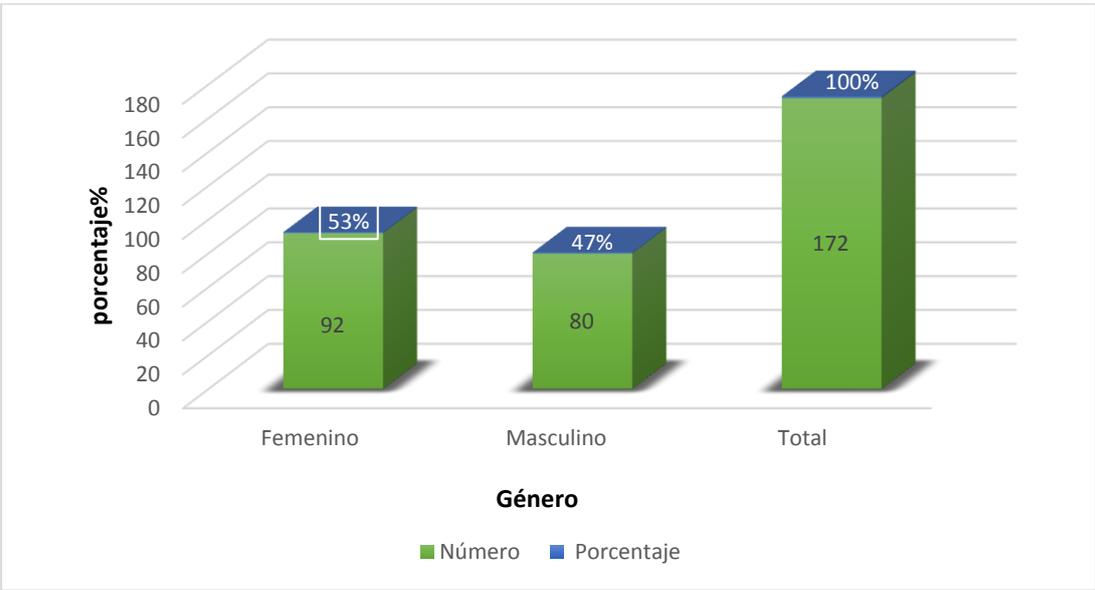
Fuente: Base de datos de análisis clínico realizado a estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Elaborado por: OROZCO V, TOALOMBO C. 2018

Interpretación:

En la gráfica número 1 se puede evidenciar que existe un porcentaje predominante de escolares de 10 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán, dentro de los cuales son 65; a los que le sigue los 55 estudiantes de 9 años con 32%, mientras que el rango intermedio posee 37 estudiantes con el 21% de 8 años de edad y por finalizar con los porcentajes más bajos con 11 y 12 años con el 4% y 5% respectivamente.

Gráfica 2.Escolares que participan en el proyecto según su género.



Fuente: Base de datos de análisis clínico realizado a estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Elaborado por: OROZCO V, TOALOMBO C. 2018

Interpretación:

La gráfica 2 muestra que hay mayor número de escolares de género femenino con un 53% y un 47% de género masculino en un 100% de 172 escolares de la Unidad Educativa Simón Rodríguez.

Tabla 1. Medias y desviación estándar de variables Edad, VSG, Ferritina; y porcentaje de PCR.

VARIABLES		VALORES		N	Valor de referencia
Edad (años) ¹		9.37	± 1.02	181	8-12 años
Velocidad de sedimentación globular (mm/h) ¹		11.73	± 4.81	172	Hombre: Hasta 15mm/hora Mujer: Hasta 20mm/Hora
Ferritinemia (ng/ml) ¹		29.26	± 18.26	172	VN: 10 – 160 ng/ml
Proteína C reactiva ²	Negativa	94.8		172	VN: < 6mg/L
	Positiva	5.2			

Fuente: Base de datos de análisis clínico realizado a estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Elaborado por: OROZCO V, TOALOMBO C. 2018

Interpretación:

La tabla 1 muestra la edad, la velocidad de sedimentación globular, la ferritinemia y la concentración de proteína C reactiva en suero de los escolares de Licán. La media de edad y de velocidad de sedimentación globular fue de 9.37 ± 1.02 años y 11.73 ± 4.81 mm/h respectivamente. En el caso de ferritina sérica fue de 29.2 ± 18.26 . La proteína C reactiva por ser una variable cualitativa presenta un 5,2% de casos positivos en los niños.

Tabla 2. Proteína C reactiva y velocidad de sedimentación globular según la clasificación de la ferritinemia.

VARIABLES		FERRITINEMIA						P
		Baja			Normal			
Proteína C reactiva ¹	Negativa	10			153			0.445
	Positiva	0			9			
Proteína C reactiva positiva (mg/L) ²		-			23.33	±	15.43	-
Velocidad de sedimentación globular (mm/h) ²		10.50	±	5.87	11.76	±	4.73	0.420

Fuente: Base de datos de análisis clínico realizado a estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

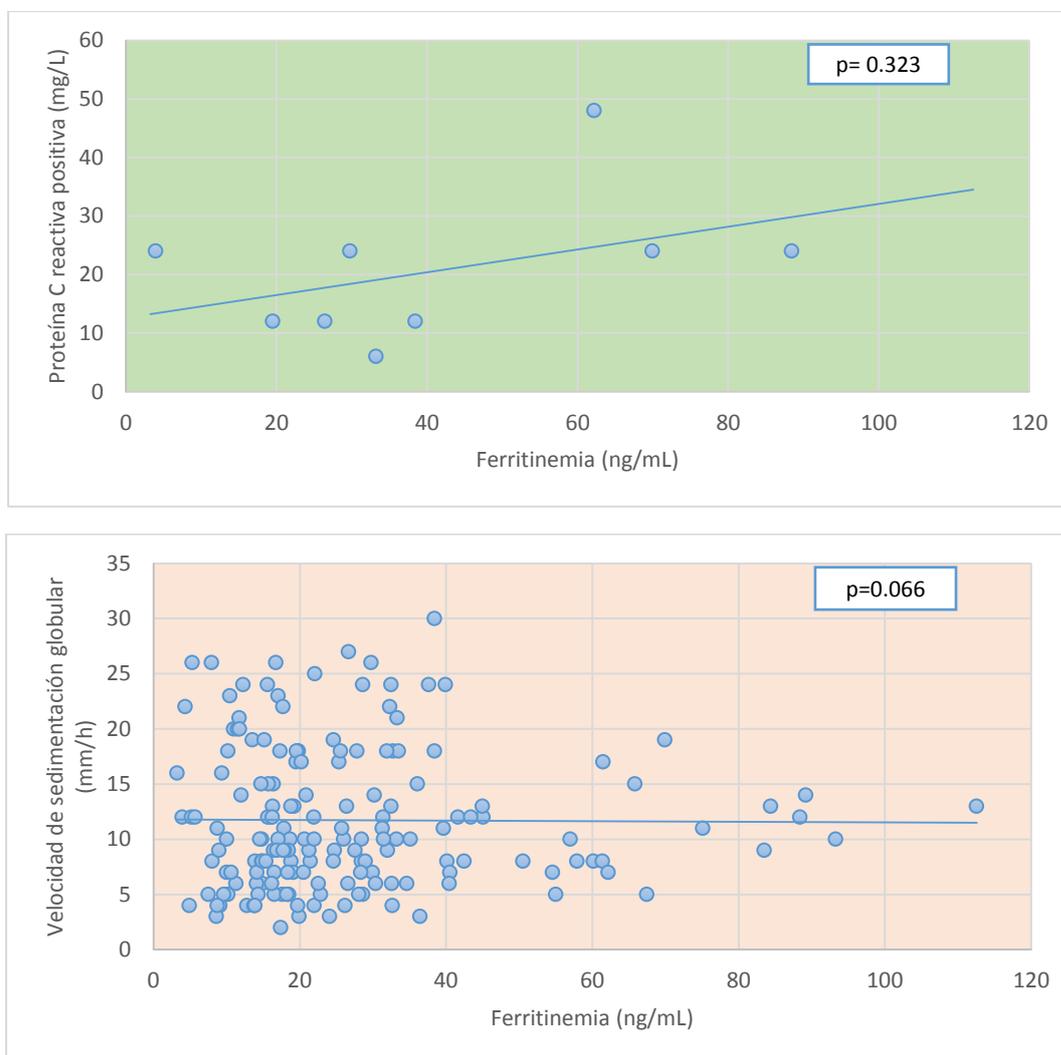
Elaborado por: OROZCO V, TOALOMBO C. 2018

Interpretación:

En la tabla 2 se describe la relación entre la proteína C reactiva y la velocidad de sedimentación globular en función de la ferritinemia; Utilizando la prueba estadística de ¹Chi-cuadrado, donde no se observó diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de proteína C reactiva negativa y positiva en los niveles bajos y normales de ferritina.

Mediante el ²test de Student el cual utiliza variables cuantitativas tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la velocidad de sedimentación globular en valores normales de ferritina sérica y PCR para frecuencias baja y normal de ferritinemia.

Gráfica 3. Correlación de la velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva con la ferritinemia.



Fuente: Base de datos de análisis clínico realizado a estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Elaborado por: OROZCO V, TOALOMBO C. 2018

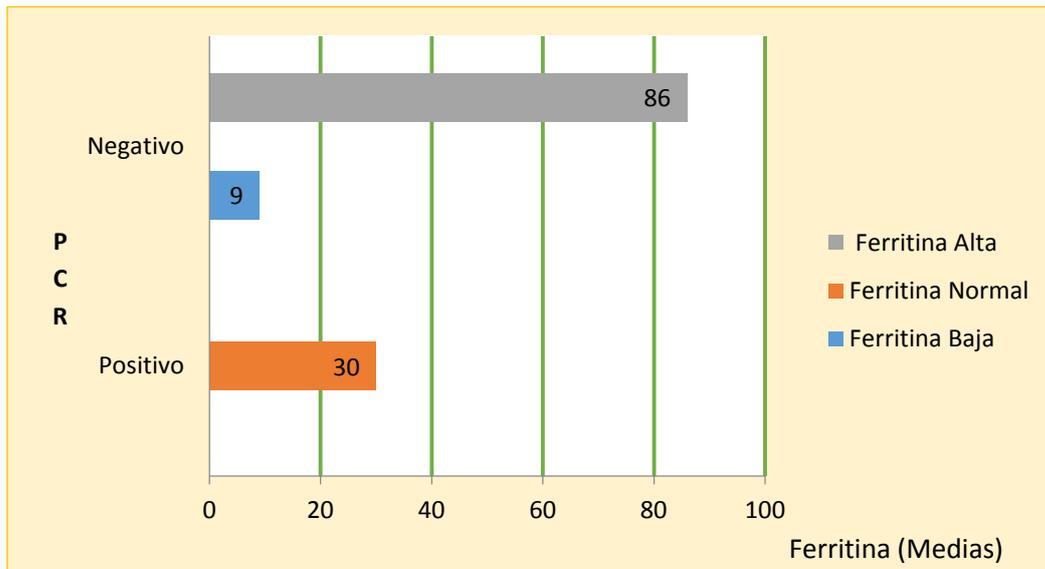
Interpretación:

En la gráfica 3 se puede observar 2 diagramas de dispersión según la Correlación de Pearson para variables cuantitativas en relación a la ferritinemia.

En la primera figura se observa que al relacionar directa e indirectamente los casos positivos de PCR con ferritinemia no constataron asociaciones estadísticamente significativas con coeficiente de correlación $p= 0.323$.

Entre ferritinemia y VSG tampoco se observan asociaciones estadísticamente significativas con coeficiente de correlación $p=0.066$.

Gráfica 4. Ferritinemia de acuerdo a la clasificación de la proteína C reactiva.



Fuente: Base de datos de análisis clínico realizado a estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

Elaborado por: OROZCO V, TOALOMBO C. 2018

Análisis:

Tal como se puede constatar en la gráfica 4, se midió la concentración de ferritina en los casos positivos y negativos de PCR donde se observó que en PCR positivo la Ferritina tiene mayor concentración dentro de los rangos normales con una media de 30 y en los casos de PCR negativo la concentración de ferritina baja dentro del rango normal su media fue de 9 y ferritina alta dentro del rango normal tuvo una media de 86. Al compararlas a través de un Test de Student no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa.

DISCUSIÓN

En la actualidad las pruebas de eritrosedimentación, Proteína C Reactiva y ferritina son consideradas como reactantes de fase aguda revelando la presencia de inflamación tanto en desarrollo como aguda y crónica.

En la Ciudad de Loja en el año 2012 se realizó una investigación para valorar la utilidad clínica de la Proteína C Reactiva en el diagnóstico de infecciones intestinales, se realizó con 250 pacientes en los cuales se encontró elevado el PCR en casos en los que se trató de una infección bacteriana; cuando el PCR salió menor o hasta 6mg/L, no se descartó la posibilidad de una infección vírica y cuando la PCR es negativa y presentan cuadros diarreicos agudos se sospecha de parasitosis alimentaria. Se logró evidenciar que la prueba de Proteína C Reactiva cuantitativa es útil al momento de evaluar procesos infecciosos posiblemente bacterianos ⁽²⁵⁾.

De acuerdo a otro estudio similar relacionado con la Ferritina sérica como reactante de fase aguda, realizado por Escobar Danya, y colaboradores en el año 2016 en la Ciudad de Quito; los resultados de su investigación indicaron que fue realizada en 160 pacientes, en los que la principal enfermedad con mayor prevalencia de ferritina sérica elevada fue la Insuficiencia Renal, con 96 casos del total de la población ⁽²⁶⁾.

En esta investigación se observó que en los 180 escolares los niveles de concentración de ferritina sérica fueron más altos en los casos en que la PCR se encontró positiva, por lo que se puede establecer que la ferritina sérica efectivamente actuó como marcador reactante de fase aguda en conjunto con el PCR.

El nivel de la ferritina sérica se relaciona principalmente con la Proteína C reactiva, tal relación se pudieron establecer mediante el análisis estadístico en el programa SPS con una diferencia estadísticamente significativa igual $p < 0,05$.

CONCLUSIONES

1. Al determinar la velocidad de sedimentación globular en sangre total en niños de 8-12 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán se encontró en su mayoría VSG normales y en algunos casos aumentadas, parámetro que al ser inespecífico no confirma posibles patologías infecciosas ni descarta procesos patológicos en desarrollo.
2. Mediante la determinación de PCR en suero sanguíneo de los estudiantes de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán se identificó mínimos casos positivos por la floculación producida como respuesta a un estímulo de procesos inflamatorios; superando la titulación de 6mg/ml.
3. Se dosificó la concentración de ferritina sérica en niños de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán mediante la técnica de ELISA en el equipo ElisysDuo 200 de la casa comercial Human, los cuales fueron en su mayoría normales dentro del rango de referencia.
4. Al relacionar la Eritrosedimentación en función de la ferritinemia, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, en la frecuencia de Velocidad de sedimentación globular normal y elevada en niveles normales de ferritina. Por lo que claramente se pudo constatar que en el rango de 8 a 12 años de edad en los escolares el VSG no actuó como reactante de fase aguda puesto que es una prueba inespecífica y en valores aumentados se consideraron falsos positivos. Por otra parte al relacionar PCR con ferritina sérica se logró evidenciar que efectivamente a mayor concentración de ferritina se presentaron casos de PCR positivo. Por lo que se concluyó que la Ferritina sérica actuó como proteína reactante de fase aguda, y no simplemente como una proteína de reserva corporal, al verse atraído el hierro por las citoquinas inflamatorias para almacenarse en los macrófagos.

RECOMENDACIONES

1. Difundir los resultados de esta investigación al centro de salud más cercano para que concluya la valoración médica por parte de un galeno en caso de quienes lo requieran con mayor prioridad.
2. Se recomienda a los padres de familia llevar a sus representados a controles médicos y de laboratorio en lapsos de tiempo no muy tardíos, para precautelar y prevenir la aparición de patologías.
3. Realizar pruebas rápidas como Eritrosedimentación y Proteína C reactiva como primera opción para identificar la posible presencia de inflamación, acortando así el tiempo de espera del resultado y favoreciendo a un rápido diagnóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gómez EN. Sistema de vigilancia del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. *Mediciego*. 2014; 20(1).
2. Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de ferritina. [Online].; 2011 [cited 2017 Noviembre 20. Available from: http://www.who.int/vmnis/indicators/serum_ferritin_es.pdf.
3. González H. Bioética de las enfermedades crónicas de la infancia. *Revista Electronica de las Ciencias Medicas en Cienfuegos*. 2008; 6(1).
4. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2017 [cited 2018 Enero 07. Available from: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs307/es/.
5. Erazo AHJ. [Repositorio Unemi].; 2017.
6. Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de ferritina para evaluar el estado de nutrición en hierro en las poblaciones. [Online].; 2011 [cited 2018 Enero 10. Available from: apps.who.int/iris/bitstream/10665/85844/1/WHO_NMH_NHD_MNM_11.2_spa.pdf?ua=1.
7. Prado MH. Evolución de los reactantes de fase aguda tras la reconstrucción no complicada del ligamento cruzado anterior por vía artroscópica. *Scielo*. 2015 Junio; 80(2).
8. Guzmán EKJ. Fisiopatología de la Inflamación. [Online].; 2004 [cited 2017 Noviembre 22. Available from: es.calameo.com/books/001665128cfdc237d4cda.
9. Guibarra EVH. Proteínas de Fase Aguda. *Revista de Actualización Clínica*. 2011; 13(1).
10. Jhon HB. Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. 2010 5th ed.: Marbán; 2005.
11. Varela MdLL. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. *ENF INF MICROBIOL*. 2009 Marzo ; 29(2).
12. Ruiz RAd. Manual de diagnóstico y terapéutica médica en atención primaria Tercera edición pag 581-582. Tercera ed. Madrid: Diaz se Santos; 2001.
13. Butriago JM Gd. Técnicas y Métodos de Laboratorio Clínico. Tercera ed.: Elsevier Masson.
14. Shirlyn M. Laboratory Test Utilization in the Diagnosis of Hypercoagulability. *ProQuest*. 2000; 13(4).
15. Luis AG. Proteína C reactiva: aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda. *Scielo*. 2007 Marzo; 77(1).

16. González IMI. Reactantes de fase aguda en reumatología. Scielo. 2014 Abril; 16(1).
17. McPherson R. HENRY'S Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 23rd ed.: Elsevier; 2017.
18. HUMANTEX. Humatex CRP. [Online]. [cited 2018 Enero 15. Available from: www.bganalizadores.com.ar/img/inserto284.pdf.
19. Esper RC. Ferritina y síndrome hiperferritinémico su impacto en el enfermo grave; conceptos actuales. Scielo. 2015 Septiembre; 29(3).
20. Navajas LF. Autoinmunidad Humana. [Online].; 2011 [cited 2018 Febrero 21. Available from: <http://www.fatedocencia.info/2007/2007.pdf>.
21. Valtueña P. La clínica y el laboratorio. 21st ed.
22. HUMAN. Elisys Duo. [Online]. [cited 2018 Enero 10. Available from: www.human.de/es/productos/elisa/analizadores-automatizados/elisys-duo/.
23. MonoBind INC. Accu-Bind. [Online]. [cited 2018 Enero 09. Available from: <http://www.annardx.com/productos/images/productos/diagnostica/endocrinologia/Ferritina%20ELISA%20AccuBind-2825300.pdf>.
24. LINEAR. CRP-Latex. [Online]. [cited 2018 Febrero 05. Available from: www.linear.es/ficheros/archivos/2410025_cas.pdf.
25. Pineda DCI. dspace.utpl. [Online].; 12 [cited 2018 Febrero 20. Available from: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6043/1/TESIS%20Tituana.pdf>.
26. Paredes ydRJ. dspace.uce. [Online].; 2016 [cited 2018 Febrero 15. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9417>.

ANEXOS



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Código 2015-048E

Con el presente documento, le invitamos a participar en nuestro proyecto de investigación, denominado "Evaluación de la situación alimentario-nutricional, higiénico-sanitaria y ambiental de los niños que asisten a escuelas rurales del cantón Riobamba de Ecuador". La investigadora principal es la Dra. Marcela Guerrero, PhD en Alimentación y Nutrición, docente-investigadora de la Universidad Nacional de Chimborazo (UNACH) de Riobamba, Ecuador. El grupo de investigadores está conformado por: la Dra. Fátima Morales, PhD en Farmacia, docente-investigadora de la UNACH; la Mgs. Ximena Robalino, Laboratorista Clínica, docente de la UNACH; la Mgs. Mercedes Balladares, Laboratorista Clínica, docente de la UNACH; la Lic. Alicia Díaz, Psicóloga, profesional de la Administración Nacional de Educación Pública de Uruguay; la Dra. Isabel Cando, Neurocientífica, docente de la UNACH; y José Ulían Herrera, estudiante de Medicina.

Usted puede hacer todas las preguntas que desee para entender claramente la participación de su hijo/a y despejar sus dudas. También puede tomarse el tiempo que considere necesario, consultar con su familia y/o amigos, para decidir si desea que el niño/a participe en este estudio.

El proyecto consiste en la determinación del estado nutricional (por antropometría, análisis bioquímicos y de la ingesta alimentaria), de la situación higiénico-sanitaria y ambiental (mediante aplicación de cuestionarios a niños y familiares, y análisis de heces), y en la evaluación del desarrollo cognitivo (por test psicológicos) de 500 escolares, de 11 parroquias rurales del cantón Riobamba, para posteriormente poder llevar a cabo medidas preventivas y de promoción de salud adecuadas a sus necesidades.

Se realizarán preguntas básicas acerca del niño/a y su familia, sobre alimentación, antecedentes personales y familiares, hábitos de vida, condiciones socio-económicas, de vivienda, agua y sanitarias. Se efectuarán exámenes de sangre y coproparásitario (muestras de heces), toma de medidas antropométricas (peso y talla) y aplicación de test estandarizados, que permitirán evaluar la capacidad cognitiva del escolar.

Para la realización de las encuestas higiénico-sanitarias y de alimentación, que tendrán una duración de media hora cada una, los padres o representantes del niño/a serán convocados a asistir a la escuela, una única vez. Las mediciones de peso y talla, las extracciones de sangre y los test cognitivos serán aplicados al escolar en el propio centro educativo, dentro del horario de clase. Por otra parte, a cada niño/a se le entregará una caja en la que deberá recoger las muestras de heces, en la mañana siguiente, y llevarlo a la escuela para que el equipo de investigadores las recoja.

El proyecto es gratuito, sin ningún tipo de costo ni pago por parte de los participantes, resultando importante para los niños y la comunidad. El escolar será beneficiado con exámenes de laboratorio y diagnósticos totalmente gratuitos, realizados por profesionales altamente especializados y con gran experiencia profesional. Se efectuará el diagnóstico de infecciones parasitarias intestinales, de malnutrición, ya sea por déficit o exceso, y del desarrollo cognitivo. En caso de que el niño/a presente parasitosis, se le proporcionará la medicación requerida para su tratamiento, según prescripción médica. Dicha medicación será entregada al padre, madre o representante, una vez culminadas las encuestas higiénico-sanitarias y alimentarias. Cabe destacar que, ni usted ni el niño recibirá pago alguno por la participación en el proyecto.

El período que el escolar estará implicado en el estudio será de 30 a 60 días, en función del tiempo que se requiera para realizar las medidas y análisis, hasta obtener el adecuado diagnóstico de cada escuela.

Los riesgos potenciales que pueden presentar los participantes son: la formación de hematoma, infección y punciones múltiples para localizar las venas. No obstante, esto se minimizará tomando precauciones, como la

Código 2015-048E

aplicación de presión sobre el lugar luego de la extracción de sangre, desinfección de la zona de punción, correcta asepsia del personal y adecuación del material utilizado a la edad del niño/a.

Cabe mencionar que, la confidencialidad de la información recolectada se mantendrá en todo momento y que los resultados obtenidos sólo se utilizarán con fines investigativos. El equipo de investigación se compromete a respetar la privacidad y el anonimato del niño/a y su familia. Para que esto se cumpla, los datos solamente serán manejados por los investigadores mencionados en el primer párrafo de este documento. La información que se nos proporcione, así como las muestras recolectadas, se identificarán con un código que reemplazará el nombre del escolar, siendo guardados en un lugar seguro donde solo el investigador principal y los colaboradores tendrán acceso. También le damos la seguridad de que el nombre del niño/a no será utilizado en los reportes o publicaciones que se realicen. Si usted está de acuerdo, las muestras que se tomen de su hijo/a o dependiente serán conservadas para futuros análisis. Finalmente, le comunicamos que el Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito podrá tener acceso a los datos obtenidos en caso de que surgieran problemas en cuanto a la seguridad y confidencialidad de la información o de la ética en el estudio.

El niño/a tiene derecho a participar de forma voluntaria en el proyecto. Si decide que su hijo/a o dependiente no sea incluido en el estudio sólo debe comunicárselo al investigador principal o a la persona que le explique este documento. En caso de que quiera interrumpir la participación del escolar puede hacerlo en cualquier momento y dicha acción no será penalizada ni perderá ningún derecho por ello.

Si tiene alguna duda, puede contactar a la investigadora principal del proyecto, Dra. Marcela Guerrero, en la Sala de Investigadores, localizada en el edificio del Centro de Tecnología Educativa (CTE), del Campus Norte, de la Universidad Nacional de Chimborazo (Avda. Antonio José de Sucre, Km 1.3/1 vía a Guano), o a través del correo electrónico mguarendia@unach.edu.ec.

Al leer y/o escuchar este consentimiento, comprendo la participación de mi hijo/a o dependiente en este estudio. Me han explicado y he entendido los riesgos y beneficios de su participación, y todas mis preguntas fueron contestadas. Me permitieron contar con tiempo suficiente para tomar la decisión y me entregaron una copia de este formulario de consentimiento informado. Por tanto, acepto voluntariamente que mi hijo/a o dependiente

[] de edad [] años y del grado [] y paralelo [],
participa en el mencionado proyecto de investigación.

Fecha	Nº Cédula de identidad
Firma	
NOMBRE DE MADRE, PADRE O TUTOR	
Firma	<u>Guero</u>
NOMBRE DEL INVESTIGADOR	NOMBRE DEL TESTIGO

Anexo 1. Consentimiento Informado



Anexo 2. Extracción sanguínea en niños de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.



Anexo 3: Instrucciones por parte de la Msg. Mercedes Balladares Coordinadora del Proyecto de Investigación



Anexo 4. Realización y lectura de Velocidad de sedimentación Globular.



Anexo 5. Técnica de Proteína C reactiva



Anexo 6. Equipo ElisisDuo Human utilizado para determinar Ferritina.

VSG PCR Y FERRITINA [Sólo lectura] - Microsoft Excel

Inicio Insertar Diseño de página Fórmulas Datos Revisar Vista

Calibri 11 Fuente Ajustar texto General

Cortar Copiar Pegar Copiar formato Portapapeles Fuente Alineación Número Formato condicional Dar formato como tabla Estilos de celda Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Celdas Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar Borrar Modificar

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA
1	CÓD	GÉNERO	CURS	PARA	EDAD	VSG	PCR mg/L	ERRITINA ng/ml	CÓD	GÉNERO	CURS	PARA	EDAD	VSG	PCR mg/L	ERRITINA ng/ml	CÓD	GÉNERO	CURS	PARA	EDAD	VSG	PCR mg/L	ERRITINA ng/ml			
2	1	1	6	B	10		NEGATIVO	15,875		31	2	6	A	10	11	NEGATIVO	41,15	61	2	5	A	9	20	NEGATIVO	28,08		
3	2	2	6	B	10		NEGATIVO	12,32		32	1	6	A	10	10	NEGATIVO	12,86	62	2	5	A	9	16	NEGATIVO	11,05		
4	3	2	6	B	10		NEGATIVO	18,60		33	1	6	A	10	20	NEGATIVO	19,20	63	1	5	A	9	19	NEGATIVO	12,18		
5	4	1	6	B	10		NEGATIVO	11,51		34	2	6	A	10	10	NEGATIVO	31,38	64	2	5	A	9	10	NEGATIVO	39,84		
6	5	1	6	B	10		NEGATIVO	11,65		35	1	6	A	10	9	NEGATIVO	12,32	65						NO HAY PACIENTE			
7	6	1	6	B	10		NEGATIVO	18,45		36	2	6	A	10	10	HITIVO = 24m	45,93	66	1	5	A	9	14	NEGATIVO	20,74		
8	7	2	6	B	10		NEGATIVO	23,53		37	1	6	A	10	14	NEGATIVO	43,73	67	1	5	A	9	14	NEGATIVO	12,73		
9	8	1	6	B	10		NEGATIVO	21,44		38	2	6	A	10	19	NEGATIVO	29,31	68	2	5	A	9	13	NEGATIVO	35,51		
10	9	1	6	B	10		NEGATIVO	38,14		39	1	6	A	10	13	NEGATIVO	12,39	69	2	5	A	9	6	NEGATIVO	24,84		
11	10	1	6	B	10		NEGATIVO	63,20		40	1	6	A	10	16	NEGATIVO	28,52	70	2	5	A	9	10	NEGATIVO	15,88		
12	11	1	6	B	10		NEGATIVO	32,58		41	1	6	A	10	15	NEGATIVO	9,87	71	1	5	A	9	13	NEGATIVO	10,92		
13	12	1	6	B	10		NEGATIVO	67,23		42	1	6	A	10	5	NEGATIVO	8,84	72	1	5	A	9	12	NEGATIVO	18,75		
14	13	2	6	B	10		NEGATIVO	20,66		43	1	6	A	10	18	SITIVO=12m	23,94	73	2	5	A	9	10	NEGATIVO	23,77		
15	14	1	6	B	10		NEGATIVO	13,14		44	1	6	A	10	14	NEGATIVO	17,55	74	1	5	A	9	12	NEGATIVO	15,80		
16	15	2	6	B	10		NEGATIVO	24,02		45	1	6	A	10	15	NEGATIVO	25,09	75	2	5	A	9	8	NEGATIVO	21,05		
17	16	1	6	B	10		NEGATIVO	43,73		46	2	6	A	10	9	NEGATIVO	42,59	76	1	5	A	9	15	NEGATIVO	10,52		
18	17	2	6	B	10		NEGATIVO	20,66		47	2	6	A	10	11	NEGATIVO	70,85	77	2	5	A	9	7	NEGATIVO	9,29		
19	18	1	6	B	10		NEGATIVO	66,42		48	2	6	A	10	10	NEGATIVO	36,96	78	1	5	A	9	12	NEGATIVO	33,14		
20	19	1	6	B	10		NEGATIVO	34,17		49	2	6	A	10	20	SITIVO=12m	78,86	79	2	5	A	9	13	NEGATIVO	54,91		
21	20	1	6	B	10		NEGATIVO	14,24		50	1	6	A	10	16	NEGATIVO	11,18	80	1	5	A	9	14	NEGATIVO	19,58		
22	21	2	6	B	10		NEGATIVO	28,34		51	2	6	A	10	5	NEGATIVO	36,28	81	1	5	A	9	10	NEGATIVO	20,74		
23	22	1	6	B	10		NEGATIVO	26,10		52	1	6	A	10	7	NEGATIVO	15,02	82	1	5	A	9	11	HITIVO = 48 n	34,08		
24	23	1	6	B	10		NEGATIVO	31,11		53						NO HAY PACIENTE		83	2	5	B	9	7	NEGATIVO	40,64		
25	24	1	6	B	10		POSITIVO = 48 mg/L	22,24		54	2	5	A	9	14	NEGATIVO	10,33	84	1	5	B	9	8	NEGATIVO	7,33		
26	25	2	6	B	10		NEGATIVO	38,44		55	2	5	A	9	17	NEGATIVO	25,43	85	2	5	B	9	11	NEGATIVO	28,25		
27	26	2	6	A	10		NEGATIVO	31,84		56	1	5	A	9	14	NEGATIVO	27,73	86	1	5	B	9	9	NEGATIVO	8,08		
28	27	2	6	A	10		NEGATIVO	39,94		57	2	5	A	9	19	NEGATIVO	23,04	87	2	5	B	9	15	NEGATIVO	11,85		
29	28	2	6	A	10		NEGATIVO	33,79		58	2	5	A	9	20	NEGATIVO	55,35	88	2	5	B	9	15	NEGATIVO	14,45		
30	29	1	6	A	10		NEGATIVO	16,24		59	1	5	A	9	18	NEGATIVO	34,26	89	1	5	B	9	11	NEGATIVO	13,76		
31	30	1	6	A	10		NEGATIVO	39,94		60	2	5	A	9	9	NEGATIVO	18,45	90	2	5	B	9	6	NEGATIVO	11,78		
32																											
33	CÓD	GÉNERO	CURS	PARA	EDAD	VSG	PCR mg/L	ERRITINA ng/ml	CÓD	GÉNERO	CURS	PARA	EDAD	VSG	PCR mg/L	ERRITINA ng/ml	CÓD	GÉNERO	CURS	PARA	EDAD	VSG	PCR mg/L	ERRITINA ng/ml			
34	91	2	5	B	9	18	NEGATIVO	17,63		121	1	6	C	10	7	NEGATIVO	43,83	151	2	4	A	8	11	NEGATIVO	75,12		
35	92	2	5	B	9	14	NEGATIVO	19,35		122	2	6	C	10	7	NEGATIVO	23,04	152	2	4	A	8	13	NEGATIVO	84,40		
36	93	1	5	B	9	18	NEGATIVO	29,40		123	1	6	C	10	11	NEGATIVO	23,45	153	1	4	A	8	8	NEGATIVO	40,14		
37	94	2	5	B	9	21	NEGATIVO	17,92		124	2	7	A	11	13	NEGATIVO	30,75	154	2	4	A	8	6	NEGATIVO	14,11		
38	95	2	5	B	9	16	NEGATIVO	39,74		125	1	7	A	11	2	NEGATIVO	3,49	155	1	4	A	8	6	NEGATIVO	26,61		
39	96	1	5	B	9	20	NEGATIVO	40,64		126	2	7	A	11	10	NEGATIVO	15,73	156	1	4	A	8	7	NEGATIVO	19,12		
40	97	1	5	B	9	4	NEGATIVO	44,57		127	2	7	A	11	14	NEGATIVO	16,38	157	1	4	A	8	6	NEGATIVO	30,38		
41	98	1	5	B	9	19	NEGATIVO	21,92		128	1	7	A	11	11	NEGATIVO	43,84	158	1	4	B	8	12	NEGATIVO	31,38		
42	99	2	5	B	9	19	NEGATIVO	23,61		129	1	7	A	11	24	SITIVO= 24m	65,15	159	2	4	B	8	10	NEGATIVO	18,67		
43	100	1	5	B	9	27	NEGATIVO	24,60		130	2	7	A	11	8	NEGATIVO	27,30	160	1	4	B	8	13	NEGATIVO	19,20		
44	101	1	5	B	9	10	NEGATIVO	8,78		131	2	7	A	11	18	HITIVO = 12 n	67,00	161	2	4	B	8	12	SITIVO= 24m	88,41		
45	102	1	5	B	9	16	NEGATIVO	19,35		132	2	7	A	12	13	NEGATIVO	78,62	162	1	4	B	8	12	NEGATIVO	45,09		
46	103	2	5	B	9	12	NEGATIVO	16,38		133	1	7	A	12	9	NEGATIVO	68,51	163	2	4	B	8	8	NEGATIVO	21,44		
47	104	2	5	B	9	11	NEGATIVO	31,56		134	2	7	B	12	12	NEGATIVO	20,35	164									
48	105	1	5	B	9	10	NEGATIVO	13,21		135	1	7	B	12	4	NEGATIVO	17,63	165	2	4	B	8	18	NEGATIVO	17,33		
49	106	2	5	B	9	12	NEGATIVO	27,47		136	1	7	B	12	6	NEGATIVO	21,05	166									
50	107	1	5	B	9	21	NEGATIVO	8,65		137	1	7	B	12	9	NEGATIVO	36,18	167	1	4	B	8	8	NEGATIVO	50,54		
51	108	1	5	B	9	13	NEGATIVO	67,57		138	2	7	B	12	6	NEGATIVO	31,11	168	1	4	B	8	18	NEGATIVO	261,58		
52	109	1	5	B	9	15	NEGATIVO	40,64		139	2	7	B	12	7	NEGATIVO	11,12	169									
53	110	2	6	C	10	3	NEGATIVO	15,73		140	1	7	B	12	10	NEGATIVO	8,27	170									
54	111	2	6	C	10	2	NEGATIVO	39,33		141	1	4	A	8	6	NEGATIVO	14,88	171	2	4	B	8	7	NEGATIVO	54,58		
55	112	2	6	C	10	3	NEGATIVO	26,37		142	2	4	A	8	8	NEGATIVO	18,82	172	1	4	B	8	7	NEGATIVO	16,53		
56	113	2	6	C	10	4	NEGATIVO	11,12		143	2	4	A	8	10	NEGATIVO	93,28	173	1	4	B	8	11	NEGATIVO	39,64		
57	114	1	6	C	10	18	NEGATIVO	8,91		144	2	4	A	8	10	NEGATIVO	14,81	174	1	4	B	8	10	NEGATIVO	26,02		
58	115	1	6	C	10	8	NEGATIVO	12,25		145	1	4	A	8	11	NEGATIVO	17,85	175	1	4	B	8	9	NEGATIVO	21,29		
59	116	2	6	C	10	9	NEGATIVO	20,74		146	1	4	A	8	5	NEGATIVO	55,02	176	1	4	B	8	10	SITIVO=6m	33,23		
60	117	2	6	C	10	16	NEGATIVO	54,36		147	1	4	A	8	8	NEGATIVO	60,15	177	2	4	B	8	6	NEGATIVO	34,64		
61	118	1	6	C	10	12	NEGATIVO	18,97		148	2	4	A	8	9	NEGATIVO	24,76	178									
62	119	1	6	C	10	10	NEGATIVO	20,20		149	2	4	A	8	10	NEGATIVO	28,43	179	2	4	B	8	5	NEGATIVO	67,46		
63	120	2	6	C	10	17	NEGATIVO	19,28		150	1	4	A	8	7	NEGATIVO	29,94	180	2	4	B	8	2	NEGATIVO	17,4		
64																											

Inicio Proyecto de Investig... MATRIZ SPSS - valeri... Descargas Microsoft Excel - VSG ... E5 13:05

Anexo 7: Base de datos de análisis clínicos realizado a estudiantes de la unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán.

HUMATEX CRP

Prueba rápida de aglutinación en látex, para la determinación cualitativa y semicuantitativa de la proteína C-reactiva en suero no diluido (ND)

Presentación del estuche

REF	40042	40 pruebas	Estuche completo
	40040	100 pruebas	Reactivo de látex PCR
	40043	100 pruebas	Estuche completo
	40037	100 ml	GBS

IVD

Método

La prueba HUMATEX CRP se basa en la reacción inmunológica entre la proteína C reactiva (PCR) de la muestra del paciente ó suero control y el correspondiente anticuerpo anti-PCR humano, que recubre las partículas de látex.

Una reacción positiva es indicada por una marcada y visible aglutinación de las partículas de látex en el área de la lámina.

Contenidos

LR	40	Reactivo de Látex PCR (tapa blanca)	
	o	Suspensión de color azul con partículas látex poliestireno recubiertas con anticuerpos monoespecíficos anti-humano PCR (cabra)	1,0 %
	100		
PC	1,0 ml	Suero Control Positivo (tapa roja)	
		Control listo para usar, contiene suficiente concentración de PCR humana para producir una marcada aglutinación.	
NC	1,0 ml	Suero Control Negativo (tapa verde)	
		Control listo para usar, no reacciona con LR	
	1	1 Lámina con 6 áreas	
REF	40037:		
GBS	100 ml	Buffer Glycina-NaCl	pH 8,2 ± 0,2
		Glycina	100 mmol/l
		NaCl	1 g/l

LR, **PC**, **NC** y **GBS** contienen de azida de sodio 0,095%.

Estabilidad

LR, **PC** y **NC** son estables hasta su fecha de caducidad cuando se almacenan de 2...8°C.

No congelarlo!

Muestras

Suero:	Estabilidad	hasta 24 horas a 2...8°C
		hasta 4 semanas a -20°C

Esquema de pipeteo

A. Determinación cualitativa (prueba de tamizaje)

LR , PC , NC y muestras de suero a temperatura ambiente. Mezclar LR suavemente antes de usarlo, para lograr una completa homogenización de las partículas.	
Pipetear ó dejar caer las gotas en las áreas de la placa:	
Suero muestra	40 µl
PC , tapa roja	1 gota
NC , tapa verde	1 gota
LR , tapa blanca, a muestras y controles	1 gota a cada
Mezclar con diferentes palillos y extender el fluido sobre toda la superficie de cada una de las áreas.	
Inclinar la placa de atrás hacia adelante por 2 minutos de tal forma que la mezcla rote lentamente dentro de las áreas de la lámina ó poner en un rotador automático a 100 r.p.m.	
Al finalizar los 2 minutos observar el resultado bajo luz artificial.	

(1 gota = 40µl)

Interpretación de resultados

La aglutinación indica un contenido de PCR de **más de 6 mg/l** en la muestra **sin diluir**. Los sueros con resultados positivos en la prueba de tamizaje, deben analizarse de nuevo con la prueba de titulación (ver parte B).

B. Prueba semi-cuantitativa

Diluir las muestras con **GBS** (**REF** 40037):

Dilución	PCR (mg/l en muestras no diluidas)
1 + 1 (1 : 2)	12
1 + 3 (1 : 4)	24
1 + 7 (1 : 8)	48
1 + 15 (1 : 16)	96
1 + 31 (1 : 32)	192
Proceder como en la prueba cualitativa (ver parte A).	

Interpretación de resultados

Leer el título en la última dilución que presente una aglutinación visible. Multiplicar el título por el factor de conversión 6 (ver sensibilidad) y reportar el resultado en mg/l.

Ej: Título 1 : 16 → concentración de PCR:

16 x 6 [mg/l] = 96 [mg/l].

Sensibilidad

Usando una preparación estándar que tiene correlación con el material de referencia CRM 470, la prueba HUMATEX CRP ha sido ajustada para detectar concentraciones de PCR en muestra de suero no diluido equivalente a 6 mg/l ó más.

Control de calidad

PC y **NC** se deben analizar en cada serie y los resultados se deben comparar con las muestras para distinguir posibles granulaciones de una aglutinación.

PC debe mostrar una aglutinación clara dentro de los 2 minutos.

NC debe mostrar una suspensión leve sin aglutinación visible después de los 2 minutos.

Valor diagnóstico

La prueba PCR es un indicador sensible para los procesos inflamatorios, por ejemplo, la fiebre reumática y para la fase aguda de la artritis reumatoidea.

La determinación del nivel de PCR puede usarse en el control de la terapia.

Características de la ejecución

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía

www.human.de/data/gb/vr/tx-crp.pdf ó

www.human-de.com/data/gb/vr/tx-crp.pdf

Notas

- Los sueros contaminados y fuertemente lipémicos son causa de reacciones no específicas. Por lo tanto no deben ser analizados
- Un tiempo de reacción mayor de 2 minutos puede dar resultados falsos positivos debido a la desecación.
- Realizar el pipeteo teniendo el gotero en forma vertical.
- Como en todos los métodos de diagnóstico, el diagnóstico final no debe basarse exclusivamente en el resultado de una sola prueba, sino que debe estar fundamentado en la correlación de más de un resultado junto a otros hallazgos clínicos.
- Todos los reactivos contienen azida de sodio: No ingerirlo. Evitar el contacto con la piel ó las membranas mucosas.
- PC** ha sido probada para HBsAg y anticuerpos de VIH y VHC y se encontró que es no-reactiva. Sin embargo, a pesar de estos resultados negativos, deben tratarse como material potencialmente infeccioso.

Literatura

- Singer, J. M. et al, Amer. J. Clin. Path. **28**, 611 (1957)
- Nilsson, L. A., Acta Path. Microbiol. Scand. **73**, 129 (1968)
- Scheiffarth, F. et al., Blut **20**, 296 (1970)

LX-CRP
INF 4004001 E
04-2005-10



human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9688 0 - Telefax: +49 6122 9688 100 - eMail: human@human.de

Anexo 8. Técnica de Proteína C Reactiva



Ferritina
Código de Producto: 2825-300

Propósito: La determinación cuantitativa de concentración de Ferritina circulante en el suero humano mediante el análisis inmunoenzimático de microplaca.

RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

Ferritina, en circulación, medido en niveles de suero es un índice subsidiario de almacenamiento de hierro en el cuerpo. El almacenamiento de hierro es medido directamente por biopsias cuantitativas, estudios de absorción de hierro, biopsias de hígado y estimaciones microscópicas de médula espinal. Algunas condiciones asociadas con almacenamiento de hierro son la deficiencia de hierro (Anemia) y exceso de hierro (hemocromatosis) en el cuerpo. Las medidas de la capacidad total de enlace de hierro (TIBC) han sido ampliamente utilizadas como apoyo para la determinación de estos condiciones. Sin embargo, un análisis de suero Ferritina es simplemente un método más sensible y confiable para la determinación de estos trastornos.

Ferritina se presenta en la sangre en concentraciones muy bajas. Normalmente, la Ferritina circulante aproximadamente 7% de hierro plasma. El plasma ferritina se encuentra en la sangre en una concentración en el cuerpo y las variaciones de almacenamiento de hierro. Las concentraciones de plasma de Ferritina decaen muy rápido en condiciones de anemia presentándose como una forma de depósito de deficiencia de hierro tiempo después de observar déficits en la concentración de hemoglobina, tamaño de los eritrocitos y la capacidad total de enlace de hierro. De este modo el cálculo de Ferritina funciona como un indicador de depósito de hierro sin presentar complicaciones con otros condiciones actuales. Del mismo modo un gran número de condiciones crónicas pueden dar como resultado elevados niveles de Ferritina. Entre estas condiciones están: infección crónica, enfermedades inflamatorias crónicas tales como la artritis reumatoide, enfermedad del corazón y otros enfermedades malignas, especialmente linfomas, leucemias, cáncer de mama y melanomas. En pacientes que presentan alguna condición de este tipo con deficiencia de hierro, los niveles de Ferritina son frecuentemente normales. Se observa un aumento en la circulación de Ferritina en pacientes con hepatitis viral o luego de una lesión de hígado como la evocación de Ferritina presente en las células esteladas del hígado. Los niveles elevados de Ferritina se encuentran en pacientes con hemocromatosis y hemocromatosis.

Los niveles circulantes de Ferritina se han usado por personal clínico como una ayuda en la diagnosis de diversas afecciones de salud. La ferritina es una herramienta útil en la diagnosis de anemia, deficiencia de hierro por deficiencia de hierro y anemia producida por otros trastornos y, así mismo igualmente para la diagnosis de depósito de reservas de hierro mucho antes de un ataque de anemia. Se han tomado varias determinaciones para monitorizar la respuesta de almacenamiento de hierro durante el estado de embarazo y en pacientes con tratamiento de diálisis. La ferritina se usa para determinar la suficiencia de hierro en una variedad de situaciones tales como donantes de sangre y pacientes que reciben transfusiones regulares de sangre o que se encuentran en etapas de deposición de hierro.

En este método, el catalizador de ferritina, el espécimen paciente o control se adiciona primero a un pozo revestido con estrepptavidina.

treinta (30) minutos de haber adicionado la solución de peroxidación.

Note: Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción en los pozos.

CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio ensayará los controles e niveles de interior, medio y mayor nivel para el monitoreo del rendimiento del ensayo. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba realizado. Los registros de control serán mantenidos en seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes serán empleados para acortar en las tendencias. La desviación significativa del rendimiento establecido puede indicar cambio no notificado en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos del kit. Los reactivos frescos serán usados para determinar la razón para las variaciones.

CALCULO DE RESULTADOS

Una curva de respuesta a la dosis es usada para asegurar la concentración de Ferritina en especímenes desconocidos.

1. Registrar la absorbancia obtenida del látado del factor de microplaca como se detalla en el Ejemplo 1.
2. Obtener la absorbancia para cada referencia de suero duplicado versus la concentración de Ferritina correspondiente en ng/ml en el papel de gráfica lineal.
3. Sacar la mejor curva de ajuste a través de las puntos de la gráfica.
4. Para determinar la concentración de ferritina para un desconocido, localizar la absorbancia promedio de los duplicados para cada desconocido en el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección de la curva y leer la concentración (en ng/ml) del eje horizontal del gráfico. Los duplicados de los desconocidos pueden ser presentados como se indica. En el siguiente ejemplo, la absorbancia promedio (1.287) interseca la curva de respuesta a la dosis a una concentración de ferritina de 154 ng/ml (ver Figura 1).

Note: El software computador de reducción de datos diseñado (EMASys) de ELISA puede también ser usado para la reducción de datos.

Muestra	Número de Pozo	Abs. (mU)	Mejor (mU)	Concent. (ng/ml)
Cal A	A1	0.00	0.003	0
	B1	0.00	0.003	0
Cal B	C1	0.11	0.112	10
	D1	0.11	0.112	10
Cal C	E1	0.96	0.917	50
	F1	0.94	0.917	50
Cal D	G1	1.20	1.202	100
	H1	1.28	1.202	100
Cal E	A2	1.94	1.917	400
	B2	1.98	1.917	400
Cal F	C2	2.56	2.561	800
	D2	2.53	2.561	800
Control 1	E2	0.70	0.721	66.1
	F2	0.75	0.721	66.1
Control 2	G2	1.20	1.207	154.0
	H2	1.28	1.207	154.0
Paciente 1	A3	1.94	1.608	371.6
	B3	1.91	1.608	371.6

Se adicionan anticuerpos monoclonales marcado con biotina consecutivos para la conjugación de una curva de respuesta a la dosis de anticuerpos de Ferritina y Ferritina nativa forme un complejo inmune que se deposita en un pozo revestido con estrepptavidina. El exceso de proteína de suero se lavado en tres pasos de enjuague. Se adiciona a los pozos ocho anticuerpo específico de ferritina marcado con una enzima. El anticuerpo estrepptavidina se lee a la biotina y se inmoviliza en el pozo. El exceso de enzima se removido por medio de enjuague. Se genera un color medible al adicionar sustrato. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de ferritina en la muestra.

El uso de varias referencias de suero de niveles de ferritina conocida permite la conjugación de una curva de respuesta a la dosis de actividad y concentración. De la comparación de la curva de respuesta a la dosis una actividad de exploración desconocido puede estar correlacionada con la concentración de ferritina.

PRINCIPIO

Análisis inmunoenzimométrico secuencial (Tipo 4): Los reactivos esenciales requeridos para un análisis inmunoenzimométrico incluyen mayor afinidad y especificidad de los anticuerpos (enzima e inmunizada), con diferentes y distintos reconocimientos de epítopos, en esencia, un anticuerpo nativo. En este procedimiento, la inmunización tiene lugar durante el análisis en la superficie de una microplaca pozo a través de la interacción de estrepptavidina cubierta en el pozo y con el anticuerpo anti-biotina monoclonal marcado con biotina etiquetado posteriormente.

Después de la mezcla del anticuerpo monoclonal marcado con biotina y un suero que contiene anticuerpo nativo, la reacción resulta entre el anticuerpo nativo y los anticuerpos, formando un anticuerpo-antígeno complejo. Simultáneamente la biotina adherida al anticuerpo se une a la estrepptavidina cubierta en las microplacas resultando en la inmovilización del complejo. La interacción se ilustra en la siguiente ecuación:



$Ab_{(nativa)}$ = Anticuerpo Monoclonal Marcado con biotina (Cantidad en exceso)

$Ab_{(marcada)}$ = Anticuerpo nativo (Cantidad variable)

$Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}$ = Complejo de anticuerpo-anticuerpo (Cantidad variable)

K_a = Tasa Constante de Asociación

K_d = Tasa Constante de Disociación

$Ab_{(nativa)} + Ab_{(marcada)} + Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)} = \text{Constante Inicial (CI)}$

$\frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = \frac{Ab_{(nativa)}}{Ab_{(marcada)}} + \frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = \text{Constante Inicial (CI)}$

$\frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = \frac{Ab_{(nativa)}}{Ab_{(marcada)}} + \frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = \text{Constante Inicial (CI)}$

Luego de un periodo de incubación adecuado, la fracción única de anticuerpo-antígeno es separada del anticuerpo por disociación o enjuague. Se adiciona otro anticuerpo (etiquetado en diferente epítopo) marcado con una enzima. Ocaso una interacción por formar un complejo anticuerpo-anticuerpo-anticuerpo marcado con biotina en la superficie de la placa. El exceso de enzima se está lavado mediante un lavado. Se adiciona un sustrato adecuado para producir color, acorde para el uso del espectrofotómetro de microplacas. La actividad enzimática en las placas es directamente proporcional a la concentración de anticuerpos nativos. Mediante el uso de diversas referencias de suero de concentración antigénica conocida, se puede generar una curva de respuesta de dosis, de la cual se puede deducir la concentración de anticuerpo desconocido.

$(CI) = \frac{Ab_{(nativa)}}{Ab_{(marcada)}} + \frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = IC$

$\frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = \frac{Ab_{(nativa)}}{Ab_{(marcada)}} + \frac{Ab_{(nativa)}-Ab_{(marcada)}}{Ab_{(marcada)}} = IC$