

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO



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

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

TRABAJO DE TITULACIÓN:

**ANÁLISIS DE FERRITINA CONSIDERADA ESTÁNDAR DE ORO COMO
AYUDA AL DIAGNÓSTICO DE ANEMIA EN ESCOLARES DE 5 - 8 AÑOS DE
LA UNIDAD EDUCATIVA SIMÓN RODRÍGUEZ DE LICÁN.**

Autoras: Chuqui Guamán Selená Gina
López Garzón Shakira Estefanía

Tutora: Mgs. Ximena Robalino Flores

Riobamba – Ecuador

2018

REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: Análisis de ferritina considerada estándar de oro como ayuda al diagnóstico de anemia en escolares de 5 - 8 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán, presentado por Chuqui Guamán Selena Gina y López Garzón Shakira Estefanía, dirigida por: Mgs. Ximena Robalino Flores 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:

Dra. Patricia Miño Orbe

Presidenta del Tribunal

Mgs. Félix Falconí Ontaneda

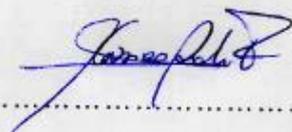
Miembro del Tribunal

Mgs. Mercedes Balladares Saltos

Miembro del Tribunal

DECLARACIÓN DE LA TUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Yo, Ximena Robalino Flores, Mgs. en calidad de tutora del proyecto de investigación con el tema: Análisis de ferritina considerada estándar de oro como ayuda al diagnóstico de anemia en escolares de 5 - 8 años de la Unidad Educativa Simón Rodríguez de Licán propuesto por las Srtas. Chuqui Guamán Selená Gina y López Garzón Shakira Estefanía, 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. En todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando a las interesadas hacer uso del presente para trámites correspondientes.



.....
Ximena Robalino Flores Mgs.

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: Chuqui Guamán Selena Gina y López Garzón Shakira Estefanía, y de la Directora del Proyecto; Mgs, Ximena Robalino Flores y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Nacional de Chimborazo.”



Selena Gina Chuqui Guamán

CI 140067069-0



Shakira Estefanía López Garzón

CI 140105678-1

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por su gran amor, bondad y por darme la sabiduría e inteligencia para realizar este proyecto y el de haber cursado cada uno de los años académicos con su bendición. A mis padres, mis pilares fundamentales y por ser el motivo de cada día para esforzarme. A los pacientes que formaron parte de este proyecto, por su colaboración. Y a todas las personas fueron parte de mi formación profesional, gracias por el escalón.

SELENA GINA

Agradezco a Dios por las bendiciones y por su amor incondicional, a mis padres y hermanos quienes siempre han estado ahí para mí dándome todo su cariño y confianza, apoyándome en el transcurso de mi vida estudiantil. A la Universidad Nacional de Chimborazo, a la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico por haberme abierto las puertas para realizar mis estudios, y en ella a los distinguidos docentes que con su profesionalismo y conocimientos han sido pilares fundamentales en mi formación profesional.

SHAKIRA ESTEFANÍA

DEDICATORIA

En especial a mis padres que son y seguirán siendo mi inspiración y ejemplo ya que gracias a ellos soy una mujer emprendedora, que siempre mira adelante para alcanzar la meta así haya tenido resbalones. A mí querida Universidad y docentes que conforman la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico. A mis amigos por permitirme aprender más de la vida a su lado. Todo este trabajo ha sido posible gracias al amor de ellos.

SELENA GINA

Este trabajo de investigación está dedicado especialmente a Dios, quién me guía siempre por el camino del bien logrando cumplir todas las metas que me he propuesto, a mis padres Alba Rogelia y Luis Darío ya que sin ellos no sería la mujer valiente que soy ahora. A mis hermanos Brayán y Brandon que gracias a su confianza y apoyo incondicional siempre han estado ahí dándome fuerzas y ánimos para seguir adelante y cumplir otra etapa en mi vida.

SHAKIRA ESTEFANÍA

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
OBJETIVO GENERAL.....	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
ESTADO DEL ARTE	5
FERRITINA	5
Concentraciones de ferritina en el organismo	5
Ferritina e inmunidad	6
ESTÁNDAR DE ORO	7
PARÁMETROS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ANEMIA	8
Hematocrito.....	8
Hemoglobina	8
Volumen Corpuscular medio (VCM).....	8
Hemoglobina corpuscular media (HCM).....	8
Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM).....	8
HIERRO	8
Parámetros indicadores del metabolismo del hierro	9
Fuentes de hierro	9
Vías de absorción intestinal de hierro	9
Compuestos de hierro esenciales.....	10
Deficiencia de hierro	10
ANEMIA FERROPÉNICA	10
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	11
Condiciones de la muestra.....	12

FERRITINA POR ENZIMOINMUNOANÁLISIS	12
Valores de referencia.....	12
Control de calidad.	12
METODOLOGÍA.....	13
Diseño de la investigación	13
Tipo de investigación.....	13
POBLACIÓN Y MUESTRA	14
Población.....	14
Muestra.....	14
Técnica e Instrumentos de la investigación	15
Procedimiento.....	15
Análisis de datos.....	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	21
CONCLUSIONES	21
RECOMENDACIONES	22
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. POBLACIÓN	14
TABLA 2. MUESTRA	15
TABLA 3. EDAD Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE LOS ESCOLARES	16
TABLA 4. EDAD Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS SEGÚN ANEMIA DETERMINADA POR FERRITINEMIA	18

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. PREVALENCIA DE ANEMIA DE ACUERDO A LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA, DE HIERRO SÉRICO Y DE FERRITINA EN SUERO.....	17
GRÁFICO 2. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANEMIA DE ACUERDO A HEMOGLOBINA, SIDEREMIA Y FERRITINEMIA	19

RESUMEN

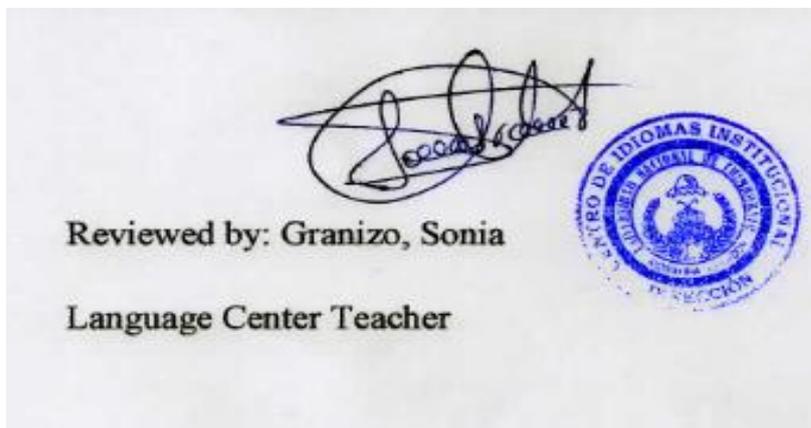
La deficiencia de hierro es la causa más habitual de anemia, afecta a millones de personas alrededor del mundo, especialmente a niños en edad preescolar y mujeres embarazadas, las secuelas son ampliamente conocidas, afectando primordialmente en los procesos de crecimiento y desarrollo infantil. El objetivo de este trabajo de investigación es la de analizar la ferritina considerada estándar de oro como ayuda al diagnóstico de anemia en escolares de 5 - 8 años de la unidad educativa “Simón Rodríguez” de Licán. Este estudio es de tipo descriptivo, no experimental, de corte transversal, en donde la muestra a estudiar fueron 174 niños que cursan de primero a cuarto año de educación básica. Dando como resultados que la media de concentración de ferritina sérica fue de 30.66 con una desviación estándar de ± 32.91 estableciendo así que los resultados de ferritinemia están dentro de los valores de referencia y que la prevalencia de anemia de acuerdo a la concentración de hemoglobina, de hierro sérico y de ferritina en suero es de 0.6%, 26.40% y 9.80%, respectivamente. Concluyendo que los resultados de ferritina como estándar de oro y hierro sérico son los marcadores indicados para el diagnóstico de anemia en niños sabiendo que estas pruebas descartan y comprueba dicha enfermedad, a diferencia de la hemoglobina ya que esta tiende a alterarse con la altitud.

Palabras claves: ferritina, estándar de oro, hierro sérico, anemia, hemoglobina.

Abstract

The research title: The iron deficiency is the most common cause of anemia that affects millions of people around the world, especially preschool children and pregnant women, the sequels are very well known, affecting primarily in the processes of growth and child development. The objective of this research is to analyze ferritin considered gold standard as an aid to the diagnosis of anemia in school children from 5 - 8 years old of the Unidad Educativa "Simón Rodríguez" from Licán. The types of research correspond to a descriptive, non-experimental, cross-sectional process, in which the study sample was taken to 174 children of the first and fourth years of basic education. The results obtained were that the mean concentration of serum ferritin was 30.66 with a standard deviation of ± 32.91 , establishing that the results of ferritinemia are within the reference values and that the prevalence of anemia according to the hemoglobin concentration, serum iron and serum ferritin is 0.6%, 26.40% and 9.80%, respectively. Concluding that the results of ferritin as gold standard and serum iron are the markers indicated for the diagnosis of anemia in children knowing that these tests discard and prove this disease, unlike hemoglobin since it tends to be altered with altitude.

Key words: ferritin, gold standard, serum iron, anemia, hemoglobin.



INTRODUCCIÓN

La anemia ferropénica es causada por deficiencia de hierro contribuyendo a un problema de Salud Pública mundial. Recientemente la Organización Mundial de la Salud posicionó a la deficiencia de hierro en el lugar siete dentro de los 10 factores de riesgo prevenibles de enfermedad, discapacidad y muerte. En el análisis específico de las enfermedades, nos encontramos factores de riesgo como: alimentación, calidad de vida, falta de agua potable, saneamiento y de higiene. Los cuales conllevan a desarrollar actividades de educación, que incluyen las labores de prevención y promoción de la salud en una comunidad, con la necesidad conocer las características de la población, ya que educar significa participar en un proyecto cuyo objetivo final es la ausencia de enfermedades ⁽¹⁾. Los derechos del buen vivir empiezan con la calidad de vida, el cual engloba: agua, alimentación, salud, educación, vivienda; como medios para lograr las condiciones y el reforzamiento de las capacidades individuales y sociales ⁽²⁾.

Aproximadamente el 2,4 millones de niños en todo el mundo señalan niveles de deficiencia de hierro y se ha argumentado que es la causa más frecuente de anemia nutricional en la infancia y la niñez. En un estudio de un grupo de niños se evaluó para América Latina una prevalencia de anemia de 45%. Estos valores oscilaron entre 20% en Chile, 33% en Argentina, 33% en Panamá, 36% en Colombia, 45% en Brasil, 51% en El Salvador, 53% en Honduras, 55% en Nicaragua, 58% en Ecuador y 77% en Perú. En Colombia, de acuerdo con la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN-2005), los depósitos de hierro estimados a través de los niveles de ferritina muestran una prevalencia cercana al 12,5% en los niños. La deficiencia de ferritina en los escolares ha sido considerada como problema de importancia a nivel de Salud Pública y su estudio debe ser considerado de interés prioritario en las distintas agendas de salud ⁽³⁾. La ferritina es una proteína que almacena hierro y circula por el organismo a través del torrente sanguíneo. La función que desempeña la ferritina es la de regular la absorción intestinal del hierro ⁽⁴⁾. En una investigación hubo 135 pacientes con ferritina igual o superior a 2.000 ng/ml en donde los procesos clínicos encontrados incluían enfermedades hematológicas (45,9%), hepatopatías (23%), insuficiencia renal crónica (17,78%), neoplasias (10,4%), enfermedades inflamatorias sistémicas (7,4%), transfusiones crónicas (7,4%) y la infección sistémica no debida al virus de la inmunodeficiencia humana (5,9%). Un 3,7% de los pacientes presentaron un proceso

clínico no relacionado con la elevación de ferritina. Las enfermedades inflamatorias sistémicas presentaron las concentraciones más altas, 5.856 ng/ml; ⁽⁵⁾. Esta proteína plasmática se encuentra en pequeñas concentraciones y también se correlaciona positivamente con la magnitud de las reservas totales de hierro corporal, aun en ausencia de inflamación ⁽⁶⁾.

En Ecuador la carencia de hierro es uno de los problemas nutricionales de mayor dimensión. Se estima que el 70% de niños y niñas, especialmente aquellos que viven en zonas rurales de la sierra en donde las cifras llegan hasta un 84%. Demostrando que el Ecuador es uno de los países más afectados por esta situación en comparación con otros países de Latinoamérica. Por este motivo El Fondo de Las Naciones Unidas para la infancia ha brindado su permanente apoyo ⁽⁷⁾. Se ha establecido que las pérdidas causadas por insuficiencia de micronutrientes como el hierro, representan en incapacidades y muertes, un costo del 5% del Producto Interno Bruto (PIB), mientras que la ejecución de tácticas nutricionales apropiadas como la fortificación de alimentos, tiene un costo menor al 0,3 % del PIB ⁽⁸⁾.

Considerando la dependencia con la edad que presenta este micronutriente y la escasa información existente, surge la necesidad de precisar qué factores se asocian con las concentraciones plasmáticas en este grupo etario ⁽³⁾. Es importante resaltar que la cantidad de hierro absorbido está determinada por las necesidades corporales de hierro que, una vez presente en la luz duodenal es absorbido para pasar a la sangre y ser valorada en suero ⁽⁹⁾.

En el presente proyecto se analizó la determinación de la concentración de ferritina en los escolares de la Unidad Educativa “Simón Rodríguez” de Licán del cantón Riobamba, para contribuir como un parámetro indicador en el diagnóstico de anemia, debido a que la ferritina es una proteína que almacena el hierro y al calcular los valores de ferritina, se está siendo más específico en la cantidad de hierro que existe en el organismo, las deficiencias de hierro están asociadas con disfunción cognitiva y el bajo rendimiento escolar.

Es por ello que nuestra investigación se aplicó en los escolares de 5 a 8 años de dicha Unidad Educativa, los cuales serán beneficiarios tanto los niños, padres de familia, docentes, responsables del proyecto y la Universidad Nacional de Chimborazo.

Este proyecto fue factible gracias a la colaboración de las autoridades, padres de familia, docentes y los escolares de la unidad educativa, como los docentes investigadores del proyecto: Evaluación de la situación alimentaria nutricional higiénico-sanitario y ambiental en los niños que asisten a las escuelas rurales. (EVANES).

El adecuado estado nutricional en la población escolar constituye un factor esencial en términos de favorecer su crecimiento y desarrollo, la malnutrición por deficiencia de macronutrientes causa mayores estragos en la edad escolar, la deficiencia de hierro puede provocar irritabilidad, apatía, falta de concentración mental, pobre aprovechamiento escolar, anorexia, aumento en la susceptibilidad a las infecciones entre otras.

Es importante realizar una prueba, en condiciones libres de errores o de alteración de los resultados ya que pueden darse por diferentes motivos tales como altitud, alimentación previa a la extracción de sangre, procesos inflamatorios que enmascaran la disminución de hierro dando falsos valores. El análisis de ferritina ayuda a identificar más específicamente el almacenamiento de hierro y con esto determinar la presencia de anemia ferropénica en los escolares.

OBJETIVOS

- **OBJETIVO GENERAL**

- Analizar la ferritina considerada estándar de oro como ayuda al diagnóstico de anemia en escolares de 5 - 8 años de la unidad educativa “Simón Rodríguez” de Licán.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la concentración de ferritina en suero de los escolares de la unidad educativa.
- Comparar los resultados obtenidos con el estándar de oro de ferritina.

ESTADO DEL ARTE

FERRITINA

Es una molécula compleja con una estructura proteica formada por 24 subunidades cilíndricas compuestas por secuencias de aminoácidos llegando a recaudar 4000 a 4500 átomos de hierro ⁽¹⁰⁾, su principal función es la de ser una molécula fijadora de hierro que lo almacena para que esté disponible para diferentes funciones celulares, siendo también importante es que su valor que destacan la inflamación y las enfermedades neurodegenerativas ⁽¹¹⁾. Los valores de ferritina concentrada en el organismo es un índice muy manejado para valorar el estado de los depósitos corporales del hierro. Por ello es considerada como indicador para la detección del primer estadio del déficit de hierro ⁽¹⁰⁾. Siendo esta una herramienta sensible, específica y fiable para determinar ferropenia en los estadios iniciales, conjuntamente con otros parámetros establece la intensidad y el grado de sobrecarga de hierro del organismo en trastornos como talasemia o anemia sideroblastica ⁽¹²⁾. El Receptor soluble de la transferrina se incrementa cuando el aporte funcional de hierro es pobre. Este es el único marcador biológico que indica un inadecuado suministro de hierro a la eritropoyesis, por lo tanto tiene un valor complementario a la ferritina debido a que este no se ve afectado con los reactantes de fase aguda de forma que indica una deficiencia de hierro en presencia de infección, inflamación y/o tumores ⁽¹³⁾.

Concentraciones de ferritina en el organismo

Las concentraciones normales de ferritina dependen de la edad y el sexo. Son elevadas al nacer, aumentan durante los dos primeros meses de vida y después disminuyen durante el primer año. A partir del primer año de edad las concentraciones empiezan a aumentar de nuevo y siguen haciéndolo hasta la edad adulta. En la adolescencia los varones adquieren concentraciones más altas que las mujeres, las cuales persiste hasta finales de la edad adulta, llegando a equilibrarse a la tercera edad. En las mujeres las concentraciones de ferritina en suero se mantienen relativamente bajas hasta la menopausia y después aumentan ⁽⁶⁾.

Aproximadamente unos 8-10 mg de hierro en los depósitos es equivalente a 1 μ g/l de ferritina sérica.

Factores que intervienen en el aumento.

- Infección aguda o crónica

- Deficiencia de vitamina B12
- Ácido fólico
- Consumo excesivo de alcohol
- Leucemia
- Enfermedades hepáticas

Factor que interviene en niveles bajos de ferritina sérica es el déficit de hierro, hipotiroidismo y la ingesta de ácido ascórbico, no habiéndose detectado valores falsamente reducidos como consecuencia de otra causa ⁽¹⁴⁾, de igual manera en enfermedades como la leucemia, afecciones hepáticas por consumo de alcohol, meningitis e hipertirodismo. La exposición a la hipoxia activa el factor de transcripción HIF-1, el cual estimula la producción de EPO, transferrina y receptor soluble de transferrina, Por tal razón, las reservas de ferritina disminuyen y el hierro se traslada del compartimento de depósito al funcional ⁽¹¹⁾.

Ferritina e inmunidad

Las enfermedades asociadas a inflamación dan cantidades altas de ferritina en las cuales encontramos; enfermedad del Still de adulto, el síndrome de activación de macrófagos, la sepsis y el choque séptico, el síndrome de anticuerpos antifosfolípido catastrófico, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), el síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO), entre otras. Al ser la ferritina una proteína que sufre alteraciones durante algún tipo de inflamación que esté sufriendo el organismo se la conoce como un reactante de fase aguda ya que eleva su concentración plasmática varia en un 25% ⁽⁴⁾.

En anemias por deficiencia de hierro, las cifras de 15ng/ml en ferritina se consideran como escasas en los depósitos principales de hierro; en cambio valores de 30ng/ml facilitan un valor más predictivo positivo para esta anemia, con un porcentaje entre 92%-98%. En casos donde la ferritina se encuentra normal o elevada, la que proporciona información de aumento en los depósitos y secuestro de hierro, considerando que también puede ser por la activación del sistema inmune ⁽¹⁰⁾.

Pacientes con anemia de enfermedad crónica (AEC), como lo es la hipoproliferativa que se desarrolla en respuesta a una alteración sistemática o por inflamación y a su vez acompañada de carencia de hierro padecen anemia más grave y con frecuencia presentan microcitosis, para ayudar en el diagnóstico, de esta enfermedad se utiliza un

parámetro que es el ratio entre concentración de RSTF y el logaritmo de los niveles de ferritina. Donde los resultados de un ratio inferior a 1 indica AEC; si el ratio es mayor que 2 sugiere déficit de hierro asociado a AEC. Exámenes como la determinación del porcentaje de células rojas hipocrómicas y el contenido de hemoglobina en los reticulocitos también puede ser útil para detectar la eritropoyesis deficitaria en hierro en paciente con AEC ⁽¹⁰⁾.

En la actualidad es más utilizado R-Tf/Ferritina, un valor que muestra una relación lineal inversa con el estado del hierro, el cual permite diferenciar la anemia por deficiencia de hierro de la anemia por enfermedad crónica. El R-TF no varía en función del sexo, edad pero son ligeramente mayores en la población que vive a altitudes elevadas ⁽¹⁵⁾.

ESTÁNDAR DE ORO

Gold standard (GS): El rendimiento de todo test diagnóstico se basa en su comparación con un gold standard (estándar de oro, patrón de oro, patrón de referencia) El GS es la técnica diagnóstica que define la presencia de la condición con la máxima certeza conocida. Debido a la falta de consenso en la forma de traducir este concepto, utilizaremos su denominación en inglés ⁽⁷⁾.

El paradigma clásico de precisión diagnóstica es basado en estudios que comparan los resultados de la prueba en evaluación (prueba de índice) con los resultados del estándar de referencia, el mejor disponible método para determinar la presencia o ausencia de la condición o enfermedad de interés. Exactitud medidas expresan cómo los resultados de la prueba bajo evaluación de acuerdo con el resultado de la referencia estándar. La determinación de la precisión es un paso clave en la evaluación de la tecnología de la salud de los exámenes médicos. Los investigadores evalúan la precisión diagnóstica de una prueba a menudo encuentra situaciones donde el estándar de referencia no está disponible en todos los pacientes, donde el estándar de referencia es imperfecto o donde no hay un estándar de referencia aceptado. Usamos el término "sin situaciones estándar de oro" para referirse a todas esas situaciones Varias soluciones han sido propuesto en estas circunstancias. La mayoría de artículos tratar con referencia imperfecta o ausente los estándares se enfocan en un tipo de solución y discutir las fortalezas y limitaciones de ese enfoque. Pocos autores han comparado diferentes aborda o proporciona

directrices sobre cómo proceder cuando se enfrenta con una referencia imperfecta estándar ⁽¹⁶⁾.

PARÁMETROS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE ANEMIA

Hematocrito

Es el nombre que se le da a la fracción de volumen eritrocitario y corresponde al volumen ocupado por los eritrocitos en relación al volumen total de sangre el mismo que se expresa en porcentaje ⁽¹⁷⁾.

Hemoglobina

Es la proteína que desde el punto de vista cuantitativo es la de mayor preponderancia, ya que contiene más del 65% del hierro total del organismo, se mide en gramos por decilitro (g/dL) y representa la cantidad de esta proteína por unidad de volumen ⁽¹⁸⁾.

Volumen Corpuscular medio (VCM)

Refleja el volumen medio de los eritrocitos circulantes, siendo sus valores normales de 80 a 100 fL. Este parámetro nos ayuda a clasificar las anemias en microcíticas, normocíticas o macrocíticas,

Hemoglobina corpuscular media (HCM).

Manifiesta la cantidad media de hemoglobina en los eritrocitos circulantes, siendo sus valores normales de 20 a 35 pg. Nos permite clasificar las anemias en hipocrómicas, normocrómicas e hiperocrómicas.

Tanto el valor de VCM y HCM descienden en enfermedades crónicas, hemoglobinopatías como la talasemia y anemia sideroblástica, y ambos tienen una alta sensibilidad en el diagnóstico de la deficiencia de hierro siendo útiles para controlar el efecto del tratamiento ya sea por semanas o meses.

Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM)

Es una medida de la concentración de la hemoglobina en un volumen determinado de eritrocitos, se expresa en g/dl ⁽¹⁹⁾ ⁽²⁰⁾.

HIERRO

El hierro es un elemento fundamental para la vida, ya que interviene en procesos importantes como los de oxidación-reducción, igualmente el organismo utiliza el hierro para fabricar la hemoglobina, que es una proteína que forma parte de los eritrocitos,

encargados de transportar el oxígeno de los pulmones a las distintas partes del cuerpo, y la mioglobina, una proteína que provee oxígeno a los músculos. El exceso de hierro se almacena en el hígado, la médula ósea, el bazo y los músculos ⁽²¹⁾.

La carencia de micronutrientes se da cuando existe un desorden patológico que limita la absorción o aumenta la excreción del mismo, o cuando factores dietéticos, psicológicos o socioeconómicos afectan el consumo de los alimentos y no se pueden satisfacer las exigencias nutricionales, tal deficiencia está presente en personas desnutridas, pero también puede estar en personas aparentemente saludables. Esta carencia nutricional afecta a más de 700 millones de personas, fundamentalmente lactantes mayores, niños pequeños y mujeres en edad fértil ⁽²²⁾.

Parámetros indicadores del metabolismo del hierro

- Sideremia: mide la cantidad de hierro unido a la transferrina. Las cifras normales oscilan entre 40 y 150 mg/dL.
- Índice de saturación de la transferrina: es la razón entre la sideremia y la capacidad de unión del hierro a la transferrina.
- Ferritina. Es el parámetro más útil para valorar el nivel de los depósitos de hierro. La infección y la inflamación pueden interferir y dificultar la valoración de la ferritina, índice de saturación de la transferrina y del hierro sérico ⁽²³⁾.

Fuentes de hierro

En los alimentos, el hierro se halla formando parte de dos grupos, uno de hierro hémico y otro de hierro no hémico. El hierro hémico, forma parte de la hemoglobina, mioglobina, citocromos y varias hemoproteínas, que están presentes en los alimentos que son de origen animal. El hierro no hémico pertenece a al hierro que no se encuentra unido al grupo hemo; está formado por sales inorgánicas de este metal y se encuentra en los alimentos de origen vegetal ⁽²⁴⁾.

Vías de absorción intestinal de hierro

La circulación del hierro entre los compartimientos de depósito y los de utilización constituye un ciclo eficiente, ya que una porción pequeña de este metal es excretada; la necesidad de hierro diaria en una persona es muy baja, por lo tanto, sólo una pequeña

cantidad del total del metal ingerido es absorbida, siendo alrededor de un 10% ⁽²⁵⁾. El hierro se absorbe fundamentalmente en el duodeno. El hierro de tipo hemo es el absorbido con mayor eficacia; le sigue el hierro ferroso o divalente y después el férrico o trivalente. Si hay una deficiencia de hierro, se incrementa la absorción de hierro hasta 3-4 veces ⁽²⁶⁾.

Compuestos de hierro esenciales

El principal compuesto de hierro es la hemoglobina, seguida de la mioglobina, otra proteína que se encuentra en el músculo y tiene como función la de transportar y almacenar oxígeno para ser usado durante el proceso de contracción muscular. Los citocromos son un grupo de moléculas encargadas de las funciones metabólicas, están formados por una molécula de globina y un grupo hemo. Estando primariamente en las mitocondrias. En muchas enzimas el hierro se puede encontrar bajo la forma de hemo, como en el caso de las catalasas y peroxidasas, o como hierro no hemo, en la deshidrogenasa del ADNr, resulta indispensable, ya que estas enzimas no serían metabólicamente activas en ausencia del hierro ⁽²⁷⁾.

Deficiencia de hierro

La deficiencia de hierro se da cuando las exigencias por parte del organismo exceden los aportes habituales. En los casos en que existe escaso hierro, se originan limitaciones en la síntesis de compuestos fisiológicamente activos que lo contienen y, por lo tanto, surgen consecuencias letales. Un caso específico de la deficiencia de hierro, es la enfermedad conocida como anemia ferropénica. La deficiencia de hierro patológica es resultado, la mayor parte de las veces, de enfermedad gastrointestinal asociada con pérdida sanguínea anormal o malabsorción, infección por *H. pylori*, gastritis atrófica autoinmunitaria, enfermedad celiaca, entre otras ⁽²⁸⁾.

ANEMIA FERROPÉNICA

La anemia es una enfermedad de la sangre que se conoce como la disminución de la concentración de hemoglobina en el organismo, siendo generalmente los valores normales por encima a los 12 gr/dl en la mujer, y a 13,5 gr/dl en el hombre. Cuando baja el nivel de la hemoglobina aparecerán los síntomas: astenia, disnea, palidez, mareos, irritabilidad, menor tolerancia al ejercicio y aceleración del ritmo cardiaco. La

cantidad de hierro que asimila el organismo depende de la cantidad que ingresa al mismo, así como la composición de la dieta y la regulación de la absorción por la mucosa intestinal, la absorción de hierro por la mucosa intestinal está regulada por la cantidad de hierro corporal y el ritmo de eritropoyesis ⁽²⁹⁾.

La anemia ferropénica es la enfermedad hematológica más frecuente en la niñez, cuyo tratamiento se basa, en la corrección de la causa que la origina y en la administración de suplementos de hierro. En algunos casos en que el tratamiento con hierro oral no es posible, se acude a la administración parenteral, siendo esta vía la que permite aportar el hierro más rápidamente, lo que supone mayor eficacia en la recuperación de la anemia ⁽³⁰⁾.

Las consecuencias de la anemia, ampliamente conocidas, inciden fundamentalmente en los procesos de crecimiento y desarrollo infantil, así como en la morbilidad y mortalidad materna e infantil. Según demuestran diferentes autores, la presencia de anemia implica diferencias de entre 6 y 10 puntos en las escalas de desarrollo mental y motor, en comparación con niños no anémicos ⁽³¹⁾.

La detección temprana, así como el tratamiento adecuado comprende hoy en día en una prioridad a nivel nacional, su incidencia en países en vías de desarrollo es 2,5 veces mayor que en países desarrollados. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2011), más de 2 billones de personas tienen deficiencia de hierro, lo que representa casi el 25% de la población mundial ⁽³²⁾.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Se realiza este examen con el fin de diagnosticar una enfermedad, controlarla o si en los análisis de sangre como la hemoglobina y los glóbulos rojos son bajos. Esto podría indicar una anemia por deficiencia de hierro, para complementar y dar un diagnóstico certero se aplica otros exámenes, análisis de hierro de transferrina y de capacidad total de fijación del hierro. Estos análisis ofrecen información adicional sobre la cantidad de hierro que contiene el organismo. Para este estudio, no es necesario realizar ningún tipo de preparación ⁽³³⁾.

Condiciones de la muestra

Suero obtenido por correcta centrifugación luego de la formación del coágulo. La centrifugación de muestras antes de la formación del coágulo puede ocasionar presencia de fibrina que interfiere en la determinación. Las muestras de pacientes con tratamiento anticoagulante pueden requerir mayor tiempo de retracción del coágulo. Los distintos tipos de tubos de recolección de suero pueden arrojar valores diferentes, dependiendo de la presencia de aceleradores o geles. Condiciones pre analíticas de la toma de muestra Se recomienda que la toma de muestra sea realizada alejada de transfusión y de tratamiento endovenoso con hierro ⁽³⁴⁾.

FERRITINA POR ENZIMOINMUNOANÁLISIS

En este método, el calibrador de ferritina, el espécimen paciente o control se adiciona primero a un pozo revestido con estreptavidina. Se adicionan anticuerpos monoclonales marcado con biotina (específicos para ferritina) y se mezclan los reactantes. La reacción entre los anticuerpos de Ferritina y Ferritina nativos forma un complejo inmune que se deposita en un pozo revestida con estreptavidina. El exceso de proteínas en suero es removido en los pasos de enjuague. Se adiciona a los pozos otro anticuerpo específico de ferritina, marcado con una enzima. El anticuerpo enzimático se une a la ferritina ya inmovilizada en el pozo. El exceso de enzima es removido por medio de enjuague. Se genera un color mediante la adición de sustrato. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de ferritina en la muestra.

Valores de referencia.

- Hombres 16 – 220 ng/ml
- Mujeres 10 - 124 ng/ml
- 6meses – 16 años 10-160 ng/ml

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 ⁽³⁴⁾.

METODOLOGÍA

Diseño de la investigación

Estudio descriptivo, no experimental de corte transversal donde la población muestral fue utilizando un grupo de niños escolares entre las edades de 5 a 8 años de edad, que asisten a la Unidad Educativa “Simón Rodríguez” en el período académico septiembre 2017- junio 2018, ubicada en la parroquia de Licán del cantón Riobamba en los cuales se aplicó el análisis de ferritina sérica, hematocrito, hemoglobina, hierro sérico e índices hematimétricos: (VCM, HCM, CHCM).

Al estar en contacto directo con el paciente para la toma de muestra se aplicaron principios de Bioética como lo exigen estas normas en las diferentes etapas analíticas. Los aspectos éticos-legales considerados en la propuesta de investigación están apoyados en el Art. 204 del capítulo III de la LEY ORGÁNICA DE LA SALUD DEL ECUADOR.

Además se aplicó técnicas, cuyos procedimientos de laboratorio clínico en la manipulación de las muestras de sangre fueron realizadas bajo estrictos controles y uso de consideraciones de calidad analítica.

Los escolares estudiados correspondieron a primero, segundo, tercero y cuarto año de educación básica a quienes se les analizó la concentración de la ferritina, bajo una planificación de actividades que se desarrollaron por medio de un cronograma como son la socialización, aplicación de consentimiento informado, toma de muestras sanguíneas, análisis de ferritina, reporte y entrega de resultados, finalmente la elaboración de las estadísticas.

Tipo de investigación

Este trabajo radica en un estudio cualitativo que se basó en la búsqueda de información y revisión bibliográfica sobre aspectos de la anemia infantil, siendo cuantitativo porque se fundamentó en resultados de laboratorio que consistieron en valorar la concentración de ferritina sérica en escolares cuyos resultados se correlacionaron con otros parámetros del hemograma como son el hematocrito, hemoglobina, hierro sérico e índices hematimétricos para así contribuir con el diagnóstico de anemia.

POBLACIÓN Y MUESTRA

Población

Para la realización de esta investigación se trabajó con 337 niños y niñas de la unidad educativa “Simón Rodríguez” de Licán del cantón Riobamba.

Tabla 1. POBLACIÓN

POBLACIÓN	NÚMERO DE ESTUDIANTES
TOTAL DE ESCOLARES DE LA UNIDAD EDUCATIVA “SIMÓN RODRIGUEZ”	337
TOTAL DE ESCOLARES DE GRUPO DE ESTUDIO	174

Fuente: listado de escolares con resultados de laboratorio

Muestra

Criterios de inclusión y exclusión: Fueron excluidos del proyecto de investigación todos los escolares cuyos padres de familia o representantes legales no hayan firmado el consentimiento informado, solo se incluyeron los escolares que presentaron el consentimiento informado y se tuvo total cooperación a la hora de la toma de muestra sanguínea.

La muestra correspondió a 174 escolares compuesta por niños y niñas de 5-8 años de edad quienes cursan de primero a cuarto año de educación básica, en el período académico Septiembre 2017 – Junio 2018.

Tabla 2. MUESTRA

POBLACIÓN	HOMBRES	MUJERES	TOTAL
Primer año de educación básica	20	13	33
Segundo año de educación básica	28	24	52
Tercer año de educación básica	27	25	52
Cuarto año de educación básica	16	21	37
TOTAL	91	83	174

Fuente: listado de escolares con resultados de laboratorio.

Técnica e Instrumentos de la investigación

Técnica: Análisis de laboratorio

Instrumento: Base de datos de los resultados.

Procedimiento

Para la elaboración de este proyecto de investigación se empezó con la socialización del proyecto a los padres de familia, representantes legales y autoridades de la Unidad Educativa “Simón Rodríguez” de la parroquia Licán con la finalidad de explicar sobre las actividades a ejecutar en el plantel, se solicitó la autorización para los análisis de laboratorio de los escolares por medio del consentimiento informado en donde se indicó el cómo se va a realizar la toma de muestra, por consiguiente se coordinó con las autoridades de la institución acordando fechas y horarios para la extracción de sangre en horas matutinas, a los escolares de 5-8 años de edad, mientras que en la tarde se procedió a analizarlas en el laboratorio de la Universidad Nacional de Chimborazo de forma automatizada, determinando la ferritina sérica por enzimoimmunoanálisis con todas la normas de bioseguridad y parámetros previamente establecidos, en los casos que existió muestras con valores alterados, se repitió el análisis para confirmar. Se elaboró un reporte de resultados con todos los datos obtenidos de los niños y fueron

entregados a los padres de familia, junto con todo esto se tabuló estadísticamente los resultados obtenidos.

Análisis de datos

Los resultados fueron analizados con ayuda del programa SPSS versión 2.3 y ANOVA cuyos resultados fueron comparados en variables con distribución normal, con un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

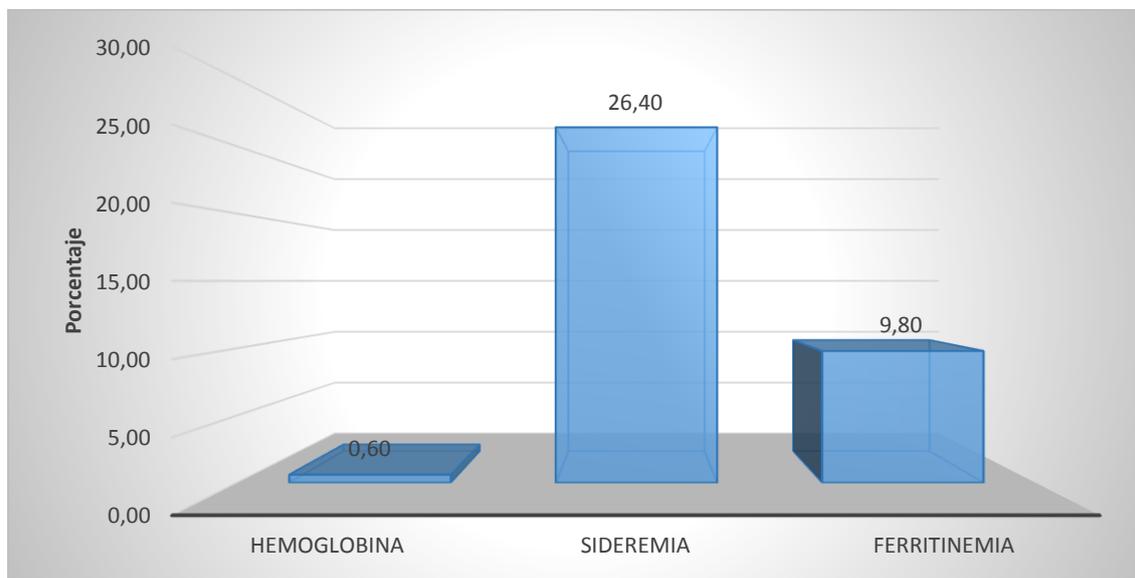
En la presente investigación se realizó un estudio sobre el análisis de ferritina considerada estándar de oro como ayuda al diagnóstico de anemia en escolares de 5 - 8 años de la Unidad Educativa “Simón Rodríguez” de Licán, lo que implicó dicha determinación en suero de los niños y la comparación de los resultados obtenidos.

TABLA 3. EDAD Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE LOS ESCOLARES

VARIABLES	N	MEDIA		DESVIACIÓN ESTÁNDAR
Edad (años)	174	6.49	±	1.04
Ferritinemia (ng/ml)	174	30.66	±	32.91

En la tabla 3 se presentan la edad y ferritinemia de los escolares. La media de edad es de 6.49 ± 1.04 años, y de ferritina 30.66 ± 32.91 .

GRÁFICO 1. PREVALENCIA DE ANEMIA DE ACUERDO A LA CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA, DE HIERRO SÉRICO Y DE FERRITINA EN SUERO.



Análisis: En la figura 1 se observa la prevalencia de anemia evaluada por medio de la concentración de hemoglobina, hierro y ferritina en suero sanguíneo. Dependiendo del indicador utilizado, el porcentaje de anemia detectado fue de 0.6%, 26.40% y 9.80%, respectivamente.

DISCUSIÓN

Villaplana en un estudio sobre el metabolismo del hierro y la anemia ferropénica establece que cuando la ferritina está por debajo de 10 $\mu\text{g/dl}$ hay con toda seguridad un déficit de hierro. Los cálculos más recientes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugieren que la anemia afecta a alrededor de 800 millones de niños y mujeres siendo la carencia de micronutrientes: vitaminas y minerales, lo que constituyen la forma de malnutrición más generalizada del mundo. Después de la edad de 24 meses, cuando la tasa de crecimiento de los niños se enlentece y la dieta se diversifica, la deficiencia de hierro disminuye. En los niños con edad mayor de 36 meses, el hierro de la dieta y el estado de nutrición de hierro suelen ser adecuados. En la investigación se obtuvo que utilizando a la ferritinemia como parámetro de diagnóstico para la detección de anemia se encontró un 9,80%, siendo este porcentaje menor que la detectada por la sideremia. Ramírez-Vélez en un estudio realizado sobre la prevalencia y factores sociodemográficos asociados a la deficiencia de ferritina en niños de Colombia, manifiesta que utilizando a la ferritinemia como parámetro para la detección de anemia

se encontró un 10,86%, existiendo una diferencia de menos del 1% de resultados reportados en ambos estudios, con esto se manifiesta una similitud de ferritina tanto en la altura de la sierra del ecuador como a nivel de la costa colombiana.

Fajardo, en un estudio sobre la relación entre los niveles de hemoglobina, hierro, ferritina y rendimiento académico en una población escolar, encontró que los valores de anemia de acuerdo a los resultados de la concentración de hemoglobina, fue de un 0,6%, siendo la misma encontrada en el proyecto. El nivel de ferritina sérica es el índice más sensible de la cantidad de hierro almacenado en el sistema reticuloendotelial. Los bajos valores de hemoglobina y ferritina sérica en este estudio muestran que la anemia encontrada está relacionada con una deficiencia de hierro.

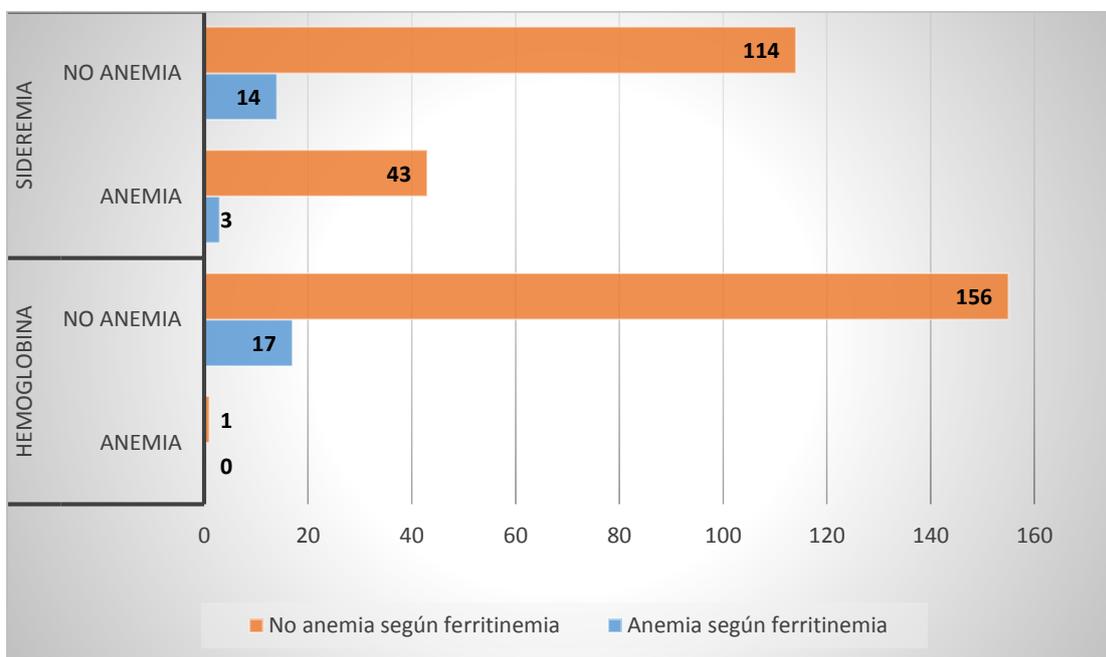
TABLA 4. EDAD Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS SEGÚN ANEMIA DETERMINADA POR FERRITINEMIA

Variables	Ferritinemia									P
	Baja			Normal			Alta			
Edad (años)	6.06	±	0.75	6.57	±	1.04	7.00	±	1.41	0.156
Hematocrito (%)	40.76	±	3.15	42.09	±	2.58	42.50	±	0.57	0.653
Hemoglobina(g/dl)	13.66	±	1.13	14.16	±	0.83	14.35	±	0.07	0.147
VCM (fl)	80.88	±	4.79	81.35	±	3.69	82.00	±	7.07	0.071
HCM (pg)	27.30	±	2.40	27.32	±	1.43	28.55	±	0.49	0.792
CHCM (g/dl)	33.51	±	1.07	33.63	±	0.84	33.70	±	0.57	0.997
Sideremia(ug/dl)	80.59	±	31.03	73.55	±	37.05	52.50	±	41.72	0.916

Resultados expresados en medias ± desviación estándar. Diferencia estadísticamente significativa $p < 0.05$ (ANOVA). VCM, volumen corpuscular medio; HCM, hemoglobina corpuscular media; CHCM, concentración de hemoglobina corpuscular media.

Análisis: muestra la edad y parámetros hematológicos de los niños según anemia determinada por la ferritinemia. No se constataron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de nivel de hierro sérico, en ninguna de las variables de estudio.

GRÁFICO 2. COMPARACIÓN DE LA PREVALENCIA DE ANEMIA DE ACUERDO A HEMOGLOBINA, SIDEREMIA Y FERRITINEMIA. DIFERENCIA ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVA P<0.05



Análisis: En la figura 2 se compara la frecuencia de anemia detectada a través de la concentración de hemoglobina y sideremia con la identificada por medio de la ferritinemia. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la cantidad de niños anémicos y no anémicos detectados por los distintos indicadores. Sin embargo, se pudo observar que el niño considerado anémico aplicando la hemoglobina, según la ferritinemia no lo es, y que 17 escolares que presentan anemia (ferritinemia) no son detectados como tal por la hemoglobina. Con respecto a la sideremia, de los 46 casos de anemia, al aplicar la ferritinemia se observa que 43 niños no presentan la patología.

DISCUSIÓN

La OMS calcula la prevalencia global de anemia cercana al 33% al menos la mitad explicada por deficiencia de ferritina. Sánchez, en un estudio ha podido detectar un déficit de ferritina, hierro y hemoglobina en los grupos magrebí y subsahariano, y de forma más acusada en el indopakistaní (sólo el 21,4% presenta niveles adecuados). En los tres grupos existe una relación directa entre estos valores. Otros estudios que han descrito que en esta población existe una alta prevalencia de anemia ferropénica en la infancia. Lanicelli, en su estudio establece una relación inversamente proporcional entre

los niveles de ferritina y el tiempo de lactancia materna: cuanto más se prolonga esta segunda, más bajos son los niveles de ferritina.

En anemias ferropénicas el valor se caracteriza por una disminución en la concentración del hierro plasmático, y de ferritina. En la presente investigación se constató que en el caso de la sideremia versus la ferritina sérica se descartan y se comprueban niños anémicos y no anémicos. Dando lugar a un estado inicial de deficiencia de hierro que, de no ser corregida, puede llegar a producir anemia ferropénica.

Fajardo, indica que la concentración de hemoglobina por sí sola no puede utilizarse para diagnosticar ferropenia. Sin embargo, debe medirse, aunque no todas las anemias estén causadas por ferropenia. Este solo proporcionara información sobre la intensidad de la ferropenia. La superposición de niveles de hemoglobina entre la población anémica y la normal, ha establecido que un diagnóstico de anemia por niveles de hemoglobina puede tener falsos positivos o falsos negativos. Por ello se debe dar una mayor precisión en el cual se debe complementar con otras pruebas. Como se puede observar en las estadísticas los niños considerados anémicos tomando en cuenta solo los resultados de hemoglobina al relacionarla con nuestro estándar de oro (ferritina) no presentan anemia y en escolares detectados anémicos con el análisis de la ferritina, el examen de hemoglobina no los detecta.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Se analizó la concentración de ferritina sérica en la cual se obtuvo que la media fue de 30.66 con una desviación estándar de ± 32.91 estableciendo así que los resultados de ferritinemia están dentro de los valores de referencia.
- Mediante la investigación se encontró que los resultados de hemoglobina valorados independientemente no aportan a un diagnóstico confiable debido a que se halló un porcentaje mínimo de 0.60.
- Al obtener los resultados de hierro sérico y ferritina se determinó mayor porcentaje de anemia que con los de hemoglobina ya que esta tiende a alterarse con diferentes factores como la altitud.
- Finalmente se concluyó que la ferritina como estándar de oro y el hierro sérico son los marcadores indicados para el diagnóstico de anemia en niños.

RECOMENDACIONES

- Para el diagnóstico de anemia se requiere otras pruebas complementarias, como la saturación de transferrina que permite diferenciar si valores alterados de ferritina se debe al exceso o déficit de hierro o a otras causas.
- Para la extracción sanguínea se recomienda investigar al paciente por medio de encuestas para de esta manera obtener información sobre la alimentación, rendimiento académico, relación socio-afectiva y demás parámetros útiles para correlacionar con los resultados de los exámenes de laboratorio.
- Brindar un seguimiento a los niños diagnosticados con anemia para que tanto los padres de familia como la institución tomen conciencia de la importancia sobre la alimentación escolar que podría ser útil para modificar favorablemente la función cognitiva y con ello el rendimiento escolar de los niños.

BIBLIOGRAFÍA

1. Selva L, Ochoa A. Acciones para la prevención y control de la anemia por deficiencia de hierro en niños hasta cinco años. Revista Cubana de Salud Pública [Internet]. 2011 [citado 23 Nov 2017]; 37(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S086434662011000300003&script=sci_arttext&tlng=pt
2. Avendaño O. El buen vivir. Una vía para el desarrollo. Revista de la Universidad Bolivariana [Internet]. 2010 [citado 23 Nov 2017]; 9 (25). Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S071865682010000100031&script=sci_arttext&tlng=pt
3. Ramírez Vélez R, Martínez Torres J, Meneses Echavez JF. Prevalencia y factores sociodemográficos asociados a la deficiencia de ferritina en niños de Colombia, 2010. Rev. perú. med. exp. salud pública [Internet]. 2014 Abr; [citado 23 Nov 2017], 31(2): 237-242. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342014000200007&script=sci_arttext
4. Carrillo Esper R, Peña Pérez C, Zepeda Mendoza A, Meza Márquez JM, Neri Maldonado R, Meza Ayala C, et al. Ferritina y Síndrome hiperferritinémico. Su impacto en el enfermo grave; conceptos actuales. Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int. [Internet]. 2015; [citado 24 Nov 2017]; 29(3): 157-166. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medcri/ti-2015/ti153f.pdf>
5. Herrán O, Gamboa E, Prada G. Diseño y eficacia de pruebas para determinar la deficiencia de hierro. Rev. chil. nutr. [Internet]. 2006 Dic; [citado 2017 Nov 23]; 33(3): 518-526. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182006000500008&script=sci_arttext6.
6. Organización Mundial de la Salud. Concentraciones de ferritina para evaluar el estado de nutrición en hierro en las poblaciones. Sistema de Información Nutricional sobre Vitaminas y Minerales. Ginebra, Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2011 (OMS/NMH/NHD/ MNM/11.2); [citado 24 Nov 2017]. Disponible en: http://www.who.int/vmnis/indicators/serum_ferritin_es.pdf
7. NUEVA ALTERNATIVA PARA COMBATIR LA ANEMIA EN NIÑAS Y NIÑOS ECUATORIANOS [Internet]. Unicef Ecuador. 2017 [citado 24 Nov 2017]. Disponible en: https://www.unicef.org/ecuador/media_27469.htm

8. Serpa A, Vélez L, Barajas J, Castro C, Zuluaga R. Compuestos de hierro para la fortificación de alimentos: El desarrollo de una estrategia nutricional indispensable para países en vía de desarrollo. – Una revisión. Universidad Pontificia Bolivariana. 2015; 65 (4). [citado 24 Nov 2017]. Disponible en:
9. Gualdrón M, Gutiérrez M, Mora M, Palomino LF, Camelo W. Consumo dietario de hierro y niveles de ferritina sérica en mujeres universitarias, no entrenadas, residentes a nivel del mar y en altitud intermedia. Revista Med [Internet]. 2006 14 Jul; [citado 24 Nov 2017] Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/910/91014109/>
10. Brodsky A, Kohan R, Gutierrez M, Martinuzzo M. Hematología. 1st ed. Buenos Aires, Argentina: Sociedad Argentina de Hematología; 2016.
11. Trompetero González A, Cristancho Mejía E, Benavides Pinzón W, Mancera Soto E, Ramos Caballero D. Efectos de la exposición a la altura sobre los indicadores de la eritropoyesis y el metabolismo del hierro. Revista de la Facultad de Medicina [Internet]. 2015 [citado 26 Dic 2017]; 63 (4):717-725. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/50188/54066>.
12. Pérez A. Medicina Transfusional. 1st ed. La paz, Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2018.
13. Guzmán Llanos M, Guzmán Zamudio J, Llanos de los Reyes-García M. Significado de la anemia en las diferentes etapas de la vida. Enfermería Global [Internet]. 2016 [citado 26 Dic 2017]; 15 (3):407. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S169561412016000300015
14. Boccio J, Salgueiro J. Metabolismo del Hierro: conceptos actuales sobre un micro nutriente esencial. Archivos Latinoamericanos de nutrición. [internet] 2003;53(2). [citado 26 Dic 2017]; Disponible en:
15. Biomarcadores del Metabolismo y Nutrición del Hierro. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública [Internet]. 2017 [citado 29 Dic 2017]; 34 (4). Disponible en: <http://www.rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3182/2921>
16. Rutjes A, Reitsma J, Coomarasamy A, Khan K, Bossuyt P. Evaluation of diagnostic tests when there is no gold standard. A review of methods. Health Technology Assessment. [Internet]. 2007 [citado 29 Dic 2017]; 11(50). Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Khalid_Khan58/publication/5824741_Evaluation_of_diagnostic_test_when_there_is_no_gold_standard_A_review_of_methods/links

[/55ee876408ae199d47bf04ad/Evaluation-of-diagnostic-test-when-there-is-no-gold-standard-A-review-of-methods.pdf](#)

17. Vives J, Aguilar J. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. 4th ed. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2014.
18. Hall J, Guyton A. Guyton y Hall Fisiología Médica. 12th ed. Barcelona, España: Elsevier; 2011.
19. Herebia C. INDICES ERITROCITARIOS [Internet]. BIOMETRIA HEMATICA. 2011 [citado 03 Ene 2018]. Available from: <http://biometriaeq3.blogspot.com/2011/03/indices-eritrocitarios.html>
20. P. M. INTERPRETACIÓN CLÍNICA DEL HEMOGRAMA. Revista Médica Clínica Las Condes [Internet]. 2015 [citado 3 Ene 2018]; 26 (6):713-725. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-interpretaciyn-clynica-del-hemograma-S0716864015001480>
21. Forrellat Barrios M, Gautier du Défaix Gómez H, Fernández Delgado N. Metabolismo del hierro. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2000 Dic [citado 4 Ene 2018];16(3): 149-160. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000300001
22. Cardero Reyes Y, Sarmiento González R, Selva Capdesuñer A. Importancia del consumo de hierro y vitamina C para la prevención de anemia ferropénica. MEDISAN [Internet]. 2009 [citado 04 Ene 2018]; 13(6). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102930192009000600014&script=sci_arttext&tlng=pt
23. Hernández Merino A, Blesa Baviera L, González García H. Pediatría Integral. SEPEAP [Internet]. 2016 [citado 4 Ene 2018]; 20(5). Disponible en: https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2016/07/Pediatrica-Integral-XX-05_WEB.pdf#page=7
24. Paredes Aguilera R. Metabolismo del hierro. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional [Internet]. 2009 [citado 4 Ene 2018]; 2(1). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/transfusional/mt-2009/mts091y.pdf>
25. Martínez Salgado H, Casanueva E, Rivera Dommarco J, Viteri F, Bourges Rodríguez H. La deficiencia de hierro y la anemia en niños mexicanos. Acciones para prevenirlas y corregirlas. Boletín médico del Hospital Infantil de México [Internet]. 2008 [citado 4 Ene 2018]; 65(2). Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S166511462008000200003&script=sci_arttext&tlng=pt

26. Monteagudo Montesinos E, Ferrer Lorente B. Deficiencia de hierro en la infancia (I). Concepto, prevalencia y fisiología del metabolismo férrico. Servicio de Pediatría Hospital Universitario «La Fe» Valencia. [Internet]. 2010 [citado 4 Ene 2018]; 68(5). Disponible en:
27. Wolf C. Hiperpigmentación cutánea y homeostasis del hierro: rol de la hepcidina. Revista argentina de dermatología [Internet]. 2007 [citado 5 Enero 2018]; 88(2). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-300X2007000200003
28. Delgado G. Deficiencia de hierro. Revista mexicana de hematología. [Internet]. 2014 [citado 5 Enero 2018]; 15(3). Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/hematologia/re-2014/re143a.pdf>
29. Donato H, Cedola A, Rapetti M, Buys M, Gutiérrez M, Parias R. Anemia ferropénica. Guía de diagnóstico y tratamiento. Archivos argentinos de pediatría. [Internet]. 2009 [citado 8 Enero 2018]; 104(7). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032500752009000400014
30. Rodríguez Martínez A, Moreno Villares J, Rodríguez Herrera, A, Espín B, Pizarro Martín A. Administración de hierro intravenoso en niños. Aspectos prácticos. Hospital Universitario «Virgen del Rocío» Sevilla [Internet]. 2007 [citado 8 Enero 2018]; 65(11). Disponible en:
31. Durán P. Anemia por deficiencia de hierro: estrategias disponibles y controversias por resolver. Archivos argentinos de pediatría [Internet]. 2007 [citado 8 Ene 2018]; 105(6). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032500752007000600002
32. Donato H, Piazza N. Deficiencia de hierro y anemia ferropénica. Guía para su prevención, diagnóstico y tratamiento. Sociedad Argentina de pediatría [Internet]. 2017 [citado 8 Ene 2018]; 115(4). Disponible en: http://www.sap.org.ar/uploads/consensos/consensos_deficiencia-de-hierro-y-anemia-ferropenica-guia-para-su-prevencion-diagnostico-y-tratamiento--71.pdf

33. Mesa, R. and Pruthi, S. (2017). Analisis de Ferritina. [Internet] Mayo Clinic. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/tests-procedures/ferritin-test/about/pac-20384928> [citado 9 enero. 2018].
34. Milstein C. Determinación de Ferritina Sérica. Bioquímica, Servicio de Hematología [Internet]. 2012 [citado 9 Ene 2018]; 16(2). Disponible en: <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol16-n2-122-123.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO

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 Guerendiain, 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, Neuropsicóloga, docente de la UNACH; y Janneth Lilian 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 coproparasitario (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 cajita en la que deberá recoger las muestras de heces, en la mañana siguiente, y llevarla 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 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 recolectas, 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 cuando 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 Guerendiain, 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 ½ vía a Guano), o a través del correo electrónico mguerendiain@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....., participe en el mencionado proyecto de investigación.

Fecha..... N° Cédula de identidad.....

Firma

NOMBRE DE MADRE, PADRE O TUTOR

.....

Firma

NOMBRE DEL INVESTIGADOR

.....

Firma

NOMBRE DEL TESTIGO

Anexo 2. Técnica de laboratorio



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 EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Ferritina, en circulación, medida en niveles de suero es un índice satisfactorio de almacenamiento de hierro en el cuerpo. El almacenamiento de hierro es medido directamente por fotometría cuantitativa, estudios de absorción de hierro, biopsias de hígado y exámenes microscópicos 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 mediciones de la capacidad total de enlaces de hierro (CTEH) han sido ampliamente utilizadas como apoyo para la determinación de estas condiciones. Sin embargo, un análisis de suero Ferritina es simplemente el medio más sensible y confiable para la demostración de estas afecciones.

La Ferritina se presenta en la sangre en concentraciones muy bajas. Normalmente, la Ferritina contiene aproximadamente 1% de hierro plasma. El plasma ferritina se encuentra en la misma cantidad que la acumulación en el cuerpo y las variaciones de almacenamiento de hierro. Las concentraciones de plasma de Ferritina declinan muy rápido en condiciones de anemia presentándose como una forma de desarrollo de deficiencia de hierro tiempo después de observar deficiencias en la concentración de hemoglobina, tamaño de los eritrocitos y la capacidad total de enlaces de hierro. De este modo el cálculo de Ferritina funciona como un indicador de deficiencia de hierro sin presentar complicaciones con otras condiciones actuales. Del mismo modo un gran número de condiciones crónicas pueden dar como resultado elevadas niveles de Ferritina. Entre estas condiciones están las infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias crónicas tales como la artritis reumática, enfermedad del corazón y otras enfermedades malignas, especialmente linfomas, leucemias, cáncer de mama y neoblastomas. En pacientes que presentan alguna condición de estas junto 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 evacuación de ferritina presente en las células afectadas 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 enfermedades de salud. Se ha demostrado ser una herramienta importante en la diagnosis diferencial de anemia por deficiencia de hierro y anemias producidas por otras enfermedades y así mismo importante para la exposición de depósitos de reservas de hierro mucho antes de un ataque de anemia. Se han tomado varias determinaciones para monitorear la degradación de almacenamiento de hierro durante estado de embarazo y en pacientes con tratamiento de diálisis. La ferritina se usa para demostrar la deficiencia de hierro en una variedad de poblaciones tales como donadores de sangre y personas que reciben transfusiones regulares de sangre o que se encuentran en tiempos de reposición de hierro.

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

Se adicionan anticuerpos monoclonales marcado con biotina (especificos para ferritina) y se mezclan los reactivos. La reacción entre los anticuerpos de Ferritina y Ferritina nativa forma un complejo inmune que se deposita en un pozo revestido con estreptavidina. El exceso de proteínas en suero es removido en los pasos de enjuague. Se adiciona a los pozos otro anticuerpo específico de ferritina, marcado con una enzima. El anticuerpo enzimático se une a la ferritina ya inmovilizada en el pozo. El exceso de enzima es removido por medio de enjuague. Se genera un color mediante la adición de 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 construcción 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 Inmunoenzimático secuencial (Tipo 4):

Los reactivos esenciales requeridos para un análisis inmunoenzimático incluyen mayor afinidad y especificidad de los anticuerpos (enzima e inmovilizado), con diferentes y distintos reconocimientos de epítopos, en exceso, un antígeno nativo. En este procedimiento, la inmovilización toma lugar durante el análisis en la superficie de una microplaca pozo a través de la interacción de estreptavidina cubierta en el pozo, y con el anticuerpo anti-ferritina monoclonal marcado con biotina agregado exhaustivamente.

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



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

$Ag_{(nativo)}$ = Antígeno nativo (Cantidad variable)

$Ag_{(nativo)}-Ab_{(biotina)}$ = Complejo de antígeno-anticuerpo (Cantidad variable)

k_a = Tasa Constante de Asociación

k_d = Tasa Constante de Disociación

$Ag_{(nativo)} + Ab_{(biotina)} \xrightleftharpoons[k_d]{k_a} Ag_{(nativo)}-Ab_{(biotina)}$

$Ag_{(nativo)}-Ab_{(biotina)}$ = estreptavidina inmovilizada en el pozo

$Ag_{(nativo)}-Ab_{(biotina)}$ = Complejo inmovilizado (C)

$Estreptavidina_{(C)}$ = estreptavidina inmovilizada en el pozo

$Estreptavidina_{(C)}$ = $Ag_{(Ab)}$ -Antígeno-Anticuerpo unido al pozo

Luego de un periodo de incubación adecuado, la fracción unida de anticuerpo-antígeno es separada del antígeno por decantación o aspiración. Se adiciona otro anticuerpo (ligado en diferente epítopo) marcado con una enzima. Ocurre otra interacción para formar un complejo anticuerpo-antígeno-marcado con biotina en la superficie de la placa. El exceso de enzima es eliminado mediante un lavado. Se adiciona un sustrato adecuado para producir color acorde para el uso del espectrofotómetro de microplaca. La actividad enzimática en las pozos es directamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. 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 antígeno desconocido.



$Ab_{(enzima)}$ = Anticuerpo marcado por enzima (Cantidad en exceso)

$Ab_{(enzima)}-C$ = Complejo de Antígeno-Anticuerpo

k_a = Tasa Constante de Asociación

k_d = Tasa Constante de Disociación

REACTIVOS

A. Calibradores de ferritina - 1 mIU/ml - Iconos A-F

7 viales de calibradores de ferritina a niveles de 0 (A), 10 (B), 50 (C), 150 (D), 400 (E) y 800 (F) ng/ml. Almacén a 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado.

Nota: Los calibradores en base a suero humano fueron calibrados usando una preparación de referencia, la cual fue analizada contra WHO 3er IS 94/572.

B. Reactivo Biotina Ferritina - 13 mIU/ml - Icono V

Un (1) vial que contiene monoclonal de ratón IgG marcado con biotina en buffer, tinta y preservante. Almacén a 2-8°C.

C. Reactivo Enzimático de Ferritina - 13 mIU/ml - Icono E

Un (1) vial que contiene anti-ferritina IgG marcada con peroxidasa de rábano en buffer, tinta y preservante. Almacén a 2-8°C.

D. Microplaca revestida de estreptavidina-96 pozos-Icono

Una microplaca de 96 pozos revestidas con estreptavidina y empacutada en una bolsa de aluminio con un agente de secado. Almacén a 2-8°C.

E Solución de Lavado-20 ml - Icono

Un vial que contiene un surfactante en solución salina tamponada. Un preservante ha sido adicionado. Almacén a 2-8°C.

F Substrato A - 7 mIU/ml - Icono S^A

Una (1) botella que contiene tetrametilbenzidina (TMB) en buffer. Almacén a 2-8°C.

G. Substrato B - 7 mIU/ml - Icono S^B

Una (1) botella que contiene peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en buffer. Almacén a 2-8°C.

H. Solución de paralización - 9mIU/ml - Icono P

Una (1) botella que contiene un ácido fuerte (HCl 1N). Almacén a 2-8°C.

I. Inserto del Producto

Nota 1: No usar reactivos más allá de la fecha de expiración

Nota 2: Los reactivos abiertos son estables por 60 días cuando son almacenados a 2-8°C.

Nota 3: Los reactivos son para una microplaca simple de 96 pozos.

Material Adicional (no suministrado)

1. Pipetas capaces de distribuir 25 y 50µl volúmenes con una precisión superior al 1.5%.
2. Desecadores para las distribuciones repetidas de 0.100 ml y 0.350ml volúmenes con una precisión superior al 1.5% (opcional)
3. Lavador de microplaca o una botella de lavado (opcional)
4. Lector de microplaca con capacidad de absorción de longitud de onda de 450nm a 620nm.
5. Pipeta automática para botar los pozos de la microplaca.
6. Cubierta plástica o de microplaca para los pozos de incubación.
7. Aspirador al vacío o vaso (opcional) para los pozos del lavado.
8. Cronómetro.
9. Materiales de control de calidad.

PRECAUCIONES

Para el uso Diagnóstico in Vitro

No para el Uso Interno ni Externo en Humanos o Animales

Todos los productos que contienen suero humano se encuentran no reactivos para el Antígeno Superficial de la Hepatitis B, VIH 1 y 2 y anticuerpos para VHC por los reactivos licenciados por la FDA. Ya que no se ha conocido pruebas que pueda ofrecer seguridad a pesar que los agentes infecciosos están ausentes, todos los productos séricos de humanos deben ser manejados por potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades. Los procedimientos de laboratorio excelentes para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades/ Instituto Nacional de Salud, "Biosseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1988, HHS Publicación (F) (CC) 88-8309.

RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN Y PREPARACIÓN

Se deben emplear las precauciones en la recolección de muestras por punción venosa para las muestras de suero o sangre. Para la comparación exacta de los valores normales establecidos, una muestra de suero por la mañana en ayunas

será obtenida. La sangre será recogida en un tubo de punción venosa con líneas roja superior en activos o anticoagulantes. Permitir que la sangre coagule. Centrifugar el espécimen para separar el suero de las células.

Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por un periodo máximo de 5 días. Si el espécimen no puede ser almacenado dentro de este tiempo, la muestra puede ser almacenada a temperatura de -20°C por más de 30 días. Evitar el congelamiento rápido y el descongelamiento. Cuando se analiza en duplicado, 0.050ml del espécimen es requerido.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. Buffer para Lavado

Dividir los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionizada en un contenedor de almacenaje adecuado. Almacén a temperatura ambiente de 20-25°C hasta 60 días.

2. Solución de Sustrato de Trabajo

Verter el contenido del vial color ambar marcado como Solución A dentro del vial transparente Solución B, colocar la tapa amarilla en el vial transparente para una fácil identificación. Mezclar y marcar según corresponde Almacén a 2 a 8°C.

Nota: No usar el sustrato de trabajo si se ve azul.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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

1. Formatear los pozos de la microplaca para cada suero de referencia, muestras de control y de paciente para que sean almacenados en duplicado. Colocar las líneas en utilizadas de micro pozos nuevamente en la bolsa de aluminio, sellar y almacenar 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. Es muy importante dispensar todos los reactivos cercanos al fondo del pozo cubierto.
4. Revolver la microplaca ligeramente por 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Decantar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si se decanta, se debe vaciar la placa sobre un papel absorbente.
7. Adicionar 300µl de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar (pipetear y vaciar) o aspirar. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados. Se puede utilizar un lavador de placa automático o manual. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se usa una botella lavadora, llenar cada pozo descomprimiendo los contenedores (evitar las burbujas de aire) para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir cuatro (4) veces adicionales.
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. Decantar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si se realiza decantación, golpear y seque la placa con papel absorbente.
11. Adicionar 300µl de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar (pipetear y vaciar) o aspirar. Repetir 2 veces adicionales para un total de 3 lavados.

NO AGITE LA PLACA DESPUÉS DE LA ADICIÓN DE SUSTRATO

12. Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
13. Adicionar 0.050ml (50µl) de solución de parada en cada pozo y mezclar suavemente durante 15-20 segundos.
14. 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 microplaca. Los resultados deben ser leídos después de

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

Nota: 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 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 realizados. Las tarjetas de control de calidad serán mantenidas 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.

CÁLCULO 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 lectado del lector de microplacas como se detalló en el Ejemplo 1
2. Graficar 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 fija a través de los 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 promediados 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).

Nota: El software computador de reducción de datos diseñado (EMA) para el ELISA puede también ser usado para la reducción de datos.

EJEMPLO 1

Muestra ID	Número de Paso	Abs (A)	Abs (B)	Concentración
Cal A	A1	0.00	0	0
	B1	0.00		
Cal B	C1	0.11	0.112	10
	D1	0.11		
Cal C	E1	0.38	0.417	30
	F1	0.38		
Cal D	G1	1.30	1.262	150
	H1	1.30		
Cal E	A2	1.98	1.917	400
	B2	1.98		
Cal F	C2	2.36	2.501	600
	D2	2.36		
Control 1	E2	0.70	0.721	88.1
	F2	0.70		
Control 2	G2	1.26	1.207	154.8
	H2	1.26		
Paciente 1	A3	1.08	1.059	201.6
	B3	1.08		

* Los datos presentados en el Ejemplo 1 y Figura 1 son únicamente para ilustración y no deben ser usados en busca de una curva de respuesta a la dosis preparada con cada análisis.

PARÁMETROS DE Q. C.

Para que los resultados del análisis sean considerados válidos se deben cumplir los siguientes criterios:

1. La observancia (OD) del calibrador F será ≥ 1.3
2. La absorbancia del calibrador A será ≤ 0.10
3. 4 de 6 grupos de control de calidad estarán dentro de los rangos establecidos

ANÁLISIS DE RIESGOS

A. Desempeño del análisis

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea mantenido en forma constante para obtener resultados reproducibles.
2. El pipeteo de las muestras no se extenderá más de 10 minutos para evitar derivar el análisis.
3. No se deben emplear muestras altamente lipémicas, hemolizadas o contaminadas.
4. Si más de 1 placa es usada, se recomienda repetir la curva de respuesta a la dosis.
5. La adición de la solución sustrato inicia una reacción química, la cual es terminada mediante la adición de la solución de parada. Por lo tanto el sustrato y solución de parada deben ser adicionados en la misma secuencia para eliminar cualquier
6. Los lectores de placa realicen mediciones verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
7. La falta al remover solución adherida en los pozos de aspiración o decantación puede resultar en replicación baja y resultados incorrectos.
8. Usar los componentes del mismo grupo no mezclar los reactivos de diferentes conjuntos.
9. Se debe realizar un pipeteo exacto y preciso, así como seguir los requerimientos de tiempo y la temperatura. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede arrojar resultados erróneos.
10. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio todos los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
11. Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario
12. El análisis de riesgo – como lo requiere la directiva IVD 98/79/EC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía Email: Marketing@monobind.com

B. Interpretación

1. Los resultados de laboratorio por sí solos son únicamente un aspecto para determinar el estado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.
2. Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos listados y requerimientos del ensayo.
3. Si los kits de prueba están alterados, ya sea por mezcla de partes de diferente kit, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, **Monobind no tendrá responsabilidad.**
4. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
5. Las muestras de pacientes con concentraciones de ferritina mayor a 600 ng/ml pueden ser diluidas (por ejemplo 1/10) con suero normal despojado de ferritina y volver a analizarlas. La

concentración de las muestras se obtiene multiplicando el resultado por el factor de dilución (10).

6. Cada componente en un análisis debe ser del mismo número de kits

RANGOS ESPERADOS DE VALORES

Se establecieron rangos aproximados de referencia para adultos hombres y mujeres mediante el uso de 400 sueros con el procedimiento para ferritina AccuBind™ ELISA.

Hombres 16 – 220 ng/ml
Mujeres 10 – 124 ng/ml

En adición a lo anterior los siguientes rangos se asignaron en base a los valores de los documentos disponibles. Sin embargo, estos rangos se corroboraron usando el Procedimiento Elisa de Microplacas AccuBind™ para Ferritina con un número limitado de muestras.

Edad Sexo Rango Esperado (ng/ml)
1-2 meses 190-610 ng/ml
2-5 meses 50-225 ng/ml
6 meses – 16 años 10-160 ng/ml

Es importante guardar en mente que el establecimiento de un rango de valores es dependiente bajo una multiplicidad de factores tales como la especificidad del método, la población probada y la precisión del método en los rangos del análisis. Por estas razones cada laboratorio dependerá bajo el rango de valores esperados establecidos por el fabricante solamente hasta un rango local pueden ser determinados por los análisis cuando el método con una población indígena al área en la cual el laboratorio está localizado.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

A. Precisión

Las precisiones dentro y entre los análisis del sistema ELISA AccuBind™ para Ferritina fueron determinadas por análisis en 3 diferentes niveles de suero de control. El número (N) valor promedio (X), la desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (C.V.) para cada uno de estos sueros controlados son presentados en la Tabla 2 y Tabla 3.

Tabla 2
Precisión dentro del Análisis (Valores en ng/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Nivel 1	20	43.5	1.36	3.1%
Nivel 2	20	110.5	6.10	5.5%
Nivel 3	20	340.8	7.54	2.2%

Tabla 3
Precisión Entre Análisis (valores en ng/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Nivel 1	10	41.2	2.33	5.5%
Nivel 2	10	113.2	8.11	7.2%
Nivel 3	10	372.4	11.80	3.2%

* Medido en 10 experimentos en duplicado.

B. Sensibilidad

La dosis mínima detectable (Sensibilidad) se define como la concentración aparente de 2σ por encima de la absorbancia para calibrador cero. 2σ de la absorbancia media para 20 repeticiones del calibrador cero de sistema de prueba de ferritina AccuBind™ ELISA presentó una sensibilidad de 1.0 ng/ml.

C. Especificidad

Se evaluó la reacción cruzada del sistema para ferritina AccuBind™ ELISA a sustancias seleccionadas adicionando sustancias de interferencia al suero matriz en varias concentraciones. Se calculó la reacción cruzada derivando un ratio entre la dosis de la sustancia que interfiere a la dosis de ferritina necesaria para producir la misma absorbancia.

Sustancia	Reactividad cruzada
Ferritina en Hígado	100%
Ferritina en Bazo	100%
Ferritina en Corazón	<1.0%
Hemoglobina	<0.1%

E. Efecto sobre dosis altas.

Visto que el análisis en diseño es secuencial, las concentraciones de Ferritina no muestran el efecto de gancho. Las muestras con concentraciones de más de 50,000 ng/ml demostraron niveles extremadamente altos de intensidad absorbancia.

REFERENCIAS

1. Svanström MR, et al. "Forskolin iron, cholesterol iron and ferritin in idiopathic hemochromatosis" *Scand J Clin Lab Invest* 27:219 (1974).
2. Cline RB, Powell LR. "Iron storage disorders of the liver". *Gastroenterology* 67:1257 (1974).
3. Anonymous. "Adult screening for anemia and hemoglobinopathy". *Nurse Pract* 20:48-51 (1995).
4. Cusi MC, Giacaro M, Horenkova CH. "Iron status and risk of cardiovascular disease". *Ann Epidemiol* 7:42-66 (1997).
5. Edwards CD, Swamer JP. "Screening for hemochromatosis". *NEJM* 32:1515-15 (1995).
6. Jansz JJP, Vlezer HSA. "Determination of the percentage of heat hemoglobin in the blood of normal children". *Am J Dis Child* 62:588-98 (1964).
7. Juhanova AK, Davit V, LeGal JF. "Genetic hemochromatosis". *Ann Biol Clin (Paris)* 55:189-193 (1997).
8. Little DR. "Hemochromatosis: Diagnosis and Management". *Am Fam Physician* 52:2623-2628 (1995).
9. Morkawa K, Onoko F, Morkawa S. "A test for ferritin in hemochromatosis and the ironuria system". *Leukemia Lymphoma* 18:429-433 (1995).
10. Naranjo RL, Reilly AG, Sawicki JA. "Serum Ferritin and Heart Disease: The effect of moderate exercise on iron storage in postmenopausal women". *Can J Cardiol* 12:1253-1257 (1996).
11. Jander JA. *Textbook of Hematology*, 2nd Ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers (1996).
12. Lee GR. *Ed. Winstein's Clinical Hematology*, Baltimore, Williams & Wilkins (1990).
13. Swann-Miller SA, Lopez-Gonzalez CA, Knapke JA. *Clinical Hematology/Principles, Procedures, Correlations*, 2nd ed. Lippincott-Raven Philadelphia (1997).
14. Ties H. *Textbook of Clinical Chemistry*, Cal A. Burtis et al, WB Saunders, Philadelphia (1996).

Revisión: 2 Fecha: 11/22/10 ODC: 0383
Cat # 2025-300

For Orders and Inquiries, please contact



Tel: 949-951-2955
Fax: 949-951-3539
Email: info@monobind.com
On the Web: www.monobind.com

Please visit our website to learn more about our other interesting products and services.



Anexo 3. Aplicación del consentimiento informado



Fuente: fotografía tomada por estudiantes participes del proyecto.

Anexo 4. Extracción de muestras sanguíneas.



Fuente: fotografía tomada por estudiantes participes del proyecto.

Anexo 5. Procesamiento de muestras



Fuente: fotografía tomada por estudiantes participantes del proyecto.

Anexo. 6 Búsqueda de información en la biblioteca de la universidad



Fuente: fotografía tomada por estudiantes participantes del proyecto.

Anexo. 7 Asesoría con la docente tutora



Fuente: fotografía tomada por estudiantes participes del proyecto.

Anexo. 8 Equipo de ELISA



Fuente: fotografía tomada por estudiantes participes del proyecto.