



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS PARA EL
DIAGNÓSTICO DE ANEMIA FERROPÉNICA**



TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PRESENTA LA:

DRA. PATRICIA GALINDO DELGADO

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN:

HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

TUTOR:


DR. ROGELIO A. PAREDES AGUILERA



MÉXICO, D. F.

2005

**COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE ANEMIA
FERROPÉNICA**



**DR. JOSE NICOLAS REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



**DRA. MIRELLA VAZQUEZ RIVERA
JEFE DEL DEPTO DE PRE Y POSGRADO**



**DR. ROGELIO A. PAREDES AGUILERA
TUTOR DE TESIS**



**DRA. NORMA LÓPEZ SANTIAGO
COTUTOR DE TESIS**

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por la gran oportunidad de vivir.

A mis **PADRES**, por su apoyo incondicional, su amor, por soportar la ausencia que implicaba alcanzar mis sueños.

A mis **HERMANOS**, por sus frases de aliento y cariño siempre presentes.

A mi **ESPOSO**, por su apoyo, amor, y confianza en mi y en mis sueños.

A mis **AMIGAS**, especialmente a **Lulú**, por ser el apoyo y la fortaleza para poder terminar y alcanzar mis objetivos.

A mis **MAESTROS**, el **Dr. Paredes** y la **Dra López**, que con su ejemplo de responsabilidad y apego por los pacientes moldearon mi carácter y me dieron la imagen a seguir.

A los **NIÑOS DEL INP**, porque a pesar de ser pequeños, son grandes tesoros de sabiduría para mi formación como profesional y como ser humano.

INDICE



Página

1. Resumen.....	1
2. Marco Teórico.....	3
3. Justificación.....	9
4. Objetivo general y específicos.....	10
5. Tipo de Investigación.....	10
6. Material y Métodos.....	10
7. Criterios de Inclusión y exclusión.....	10
8. Cálculo del tamaño de la muestra.....	11
9. Descripción del método.....	11
10. Análisis estadístico.....	14
11. Consideraciones éticas.....	14
11.Resultados.....	15
12.Discusión.....	17
14.Referencias bibliográficas.....	19

COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE ANEMIA FERROPÉNICA

* Patricia Galindo Delgado, ** Rogelio A. Paredes Aguilera, ** Norma López Santiago

* **Residente de Hematología Pediátrica, ** Servicio de Hematología, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, México.**

RESUMEN

La anemia por deficiencia de hierro es la patología hematológica más frecuente en la edad pediátrica. En la literatura mundial se cuenta con estudios acerca de la importancia para la salud pública que implica la anemia ferropénica en la población infantil y las repercusiones de esta en su desarrollo así como se han descrito múltiples métodos para su diagnóstico dentro de los que se tienen múltiples pruebas siendo algunas de las más nuevas y específicas muy costosas por lo que aún no son accesibles para la población en general y algunas otras que se encuentran en estudio. En el Instituto Nacional de Pediatría se llevan a cabo 2 pruebas una basada en espectrofotometría y otra determinada por equipo automatizado, el cual es el más utilizado actualmente.

Material y Métodos: Estudio prospectivo, transversal, comparativo de casos y concurrentes, utilidad de prueba diagnóstica.

Se estudiarán 3 grupos de pacientes:

- 1) Aquellos con sospecha de deficiencia de hierro,
- 2) pacientes con sobrecarga de hierro
- y 3) pacientes infectados.

Todos pacientes atendidos por la consulta externa de Hematología.

La importancia de realizar este estudio, es determinar cual de las dos pruebas a comparar para diagnóstico de la anemia ferropriva (Método de Beale modificado

por Loria o el automatizado Synchron) es más efectivo y más sensible, ya que en nuestra consulta hemos tenido algunas discordancias en cuanto a los hallazgos clínicos e índices hematológicos y los resultados del análisis bioquímico por el método automatizado en los pacientes con deficiencia de hierro por lo que se desea hacer la comparación de ambas; y así de este modo ofrecer a los pacientes un diagnóstico certero y oportuno para iniciar tratamiento de forma temprana ya que sabemos que la anemia por deficiencia de hierro se ha relacionado a largo plazo con deterioro en el neurodesarrollo de los pacientes pediátricos si no se emplea una terapia sustitutiva oportuna.

Palabras clave: Anemia por deficiencia de hierro, índices bioquímicos, método de Véale modificado por Loria, Método automatizado Synchron.

COMPARACIÓN DE 2 MÉTODOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE ANEMIA FERROPÉNICA.

El hierro es vital para la función de numerosas enzimas críticas como catalasas, ribonucleótido reductasas, peroxidasas y citocromo oxidasas; además su principal función es formando parte de la hemoglobina, que es una proteína que contiene una gran cantidad de hierro y se encarga de transportar el oxígeno de los pulmones al resto de los tejidos. El hierro existe en dos estadios de oxidación la forma ferrosa (Fe^{2+}) y la forma férrica (Fe^{3+}), esta propiedad le permite al hierro actuar como un reductor catalítico por su capacidad de donador o aceptador reversible de electrones^{1,20,22}.

El hierro esta presente en casi todas las células del organismo, tiene varias funciones especiales, incluyendo el transporte de oxígeno, la mayoría del hierro del organismo es utilizado para la producción del Hem con las moléculas transportadoras de oxígeno Hb y mioglobina, el hierro también es esencial para la función biológica^{1,7,8}. La hemoglobina es la más abundante de las proteínas del heme y contiene aproximadamente el 65-85% del hierro del cuerpo (el hierro total del cuerpo es aproximadamente de 3.5 gr en el adulto)^{8,20,22}. La función de la hemoglobina es transportar el oxígeno por el torrente sanguíneo de los pulmones a los tejidos. La mioglobina, el pigmento rojo del músculo, transporta y deposita el oxígeno durante la contracción muscular. Esta proteína contiene cerca del 10% de el total del hierro del organismo⁸.

Además existe hierro almacenado, la mayoría se encuentra en forma de ferritina y hemosiderina, la ferritina se localiza primariamente en hígado, 2 tercios en las células reticuloendoteliales y 1 tercio en los hepatocitos, y en los precursores eritroides en la medula ósea^{8,22}. Estos dos tipos de hierro almacenado corresponden aproximadamente al 5-30% el hierro del cuerpo. En individuos normales, toda la circulación de hierro en plasma es esencialmente unido a transferrina; la transferrina constituye solo cerca del 0.1% del total del hierro circulando en plasma y tiene 3 propósitos: 1) proporcionar hierro soluble bajo

condiciones fisiológicas, 2) prevenir la toxicidad por radicales libres de hierro y 3) facilitar el transporte del mismo al interior de las células²².

El hierro total del cuerpo se encuentra en diferentes compartimentos, el hierro total medido por la ferritina, el transporte de hierro determinado por la saturación de transferrina, el hierro sérico y otros marcadores hematológicos y bioquímicos son utilizados para describir las alteraciones en la deficiencia^{2,3,5,6}.

La absorción del hierro se realiza principalmente a nivel de duodeno y en parte proximal de yeyuno en una menor cantidad, su absorción es favorecida por la acidez del jugo gástrico el cual permite un paso más fácil a través del tubo digestivo, normalmente solo cerca del 10% del hierro elemental que entra al duodeno es absorbido, sin embargo este se incrementa notablemente en la deficiencia de hierro, una porción del hierro que entra a las células de la mucosa intestinal es retenido en forma de ferritina, el hierro restante se une a la transferrina y viajará a través del organismo hasta sitios de depósito y la médula ósea; y confiere el más importante suministro de hierro para la eritropoyesis.

Los precursores eritroides necesitan una cantidad extraordinaria de hierro para la síntesis de Hb así como para la maduración y diferenciación de las células eritroides, la densidad de los receptores de transferrina en la superficie celular cambian durante la maduración eritroide. Los receptores de transferrina primero aparecen en número moderado de colonias formando una unidad eritroide (UFC-E), incrementando a 300,000 por célula en proeritroblastos y a más de 800,000 por célula en los eritroblastos basófilos cuando tienen la máxima salida de hierro. Estos niveles de hierro son suficientes para la división celular pero no para la síntesis de Hb^{8,20,21,22}.

En el eritrocito se lleva a cabo la síntesis de la Hb desde la etapa de normoblasto policromatófilo con el ingreso de hierro proveniente de la transferrina que se combina con la protoporfirina sintetizada en la mitocondria a partir de la succinil-CoA y glicina para formar el hem; esta molécula se une a la globina y el resultado es la constitución de una molécula de hemoglobina formada por cuatro globinas (α, β) y cuatro hem^{19,21,22}.

Para que la anemia por deficiencia de hierro se desarrolle debe haber un desequilibrio en el balance del hierro, y este se da en tres etapas o estadios.

a) El primer estadio consiste en depleción de los depósitos de hierro, este se caracteriza por un decremento en la concentración de ferritina sérica cuando esto sucede los depósitos de

hierro en el hígado, bazo y médula ósea. b) El segundo estadio de la deficiencia de hierro consiste en un decremento en el transporte de hierro y es probable que sea transitorio; siendo este caracterizado por un incremento en la capacidad de fijación de hierro (CTFH) lo que disminuye la concentración de hierro sérico. El término de deficiencia prelatente de hierro es usado para referirse a estos 2 primeros estadios previos a la anemia por deficiencia de hierro; c) El tercer estadio de la deficiencia de hierro se desarrolla cuando el suplemento y el transporte de hierro es insuficiente para mantener la concentración de Hb y/o otros componentes para las funciones fisiológicas. Otra forma de describir este estadio es cuando la Hb ha disminuido lo suficiente para la definición de anemia por laboratorio, así como también incluye la elevación de la protoporfirina eritrocitaria y microcitosis^{4,6,8}.

La anemia ocurre cuando el nivel de hemoglobina (Hb) es insuficiente para aportar oxígeno a los tejidos⁷. La deficiencia de hierro es la deficiencia nutricional más común en todo el mundo, siendo responsable de pérdida de productividad y muerte prematura en algunos casos¹.

La prevalencia en Estados Unidos ha disminuido desde 1960, pero sigue siendo una entidad frecuente en los países en vías de desarrollo; la prevalencia de la deficiencia de hierro varía dependiendo de la edad, nivel socioeconómico, dieta, etc ^{1,5,7}. Es más frecuentemente observada en niños, adolescentes sobre todo mujeres, y mujeres en edad fértil^{1,14,15}.

La anemia por deficiencia de hierro es la enfermedad hematológica más común de los lactantes y niños. Afecta aproximadamente al 42% de los niños entre 5 años de edad de países desarrollados y alrededor del 17% en los países industrializados². La National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES

III) en Estados Unidos, reportaron que 13% de los niños menores de 1 año, 5% de 2 años, 9% de adolescentes y 11% de mujeres en edad fértil tenían deficiencia de hierro ^{1,4}. Otro estudio realizado a adolescentes británicos encontró que la incidencia de anemia por deficiencia de hierro había disminuido en las últimas 2 décadas, pero que en 2 tercios de los adolescentes tenían una ingesta inadecuada de hierro así como en las mujeres presentaban grandes pérdidas menstruales lo cual incrementaba sus requerimientos de hierro y por lo tanto tienen un elevado riesgo de deficiencia de hierro y de anemia secundaria¹⁵.

Debido a que la infancia es un periodo de crecimiento rápido y consecuentemente hay un alto requerimiento de hierro explica por qué la anemia por deficiencia de hierro llega a tener una prevalencia entre 3-80% en las diferentes poblaciones^{1,3,5,7}.

Esto es importante sobre todo en la población pediátrica debido a que está bien demostrado la relevancia que representa esta deficiencia en el neurodesarrollo, y su persistencia puede ocasionar un déficit irreversible en el desarrollo cognoscitivo si no es detectado ni tratado de forma adecuada ^{1,2,5,8,22,23,25,26}.

A pesar de todo lo que sabemos de la deficiencia de hierro hay relativamente pocos estudios para conocer la prevalencia de deficiencia de hierro en México; en la mayoría de los estudios los niveles de Hb han sido el parámetro más frecuente para valorar esta deficiencia, estableciéndose los valores de Hb normal para la población mexicana en 15.5 g/dL para varones adultos, 12.5 g/dL para mujeres adultas y de 11 g/dL para mujeres embarazadas y niños que residen a nivel del mar^{19,20}. Conforme aumenta la altitud se observan variaciones en la cuantificación de la Hb en un valor promedio de 1 g/dL en altitudes de 1860-2670m sobre el nivel del mar¹⁹.

La deficiencia de hierro en México se encuentra entre 1.6% en varones adultos y 14.3-25% en mujeres no embarazadas. Un estudio efectuado en 451 niños preescolares para conocer la prevalencia de deficiencia de hierro en distintas áreas geográficas de la República Mexicana fue de 58% con un intervalo del 32-91%, siendo mayor en las áreas tropicales del país donde se observó la asociación más frecuente con parasitosis intestinales¹⁹.

La mayoría de las pruebas hematológicas para diagnosticar la deficiencia de hierro recomendadas por el Committee on Nutrition of the American Academy of Pediatrics incluyen fundamentalmente 2 tipos de pruebas: hematológicas y bioquímicas⁵.

Los criterios HEMATOLÓGICOS: niveles de hemoglobina bajos (Hb <10.7-11 g/dL), hematocrito disminuido (Hto <32%), volumen corpuscular medio disminuido (VCM <70 fL), concentración media de hemoglobina (CMH <22 pg), concentración media de Hemoglobina corpuscular (CMHC <32 g/dL), RDW >14.5%.

BIOQUÍMICOS: Hierro sérico menor de 30 µg/dL (5.4 µmol/L); niveles bajos de ferritina en suero (<12µg/L), zinc protoporfirina elevada (ZPP >80µmol/mol), saturación de transferrina (<8%), capacidad total de fijación del hierro (CTFH >480 µg/dL-86 µmol/L) así como también los hallazgos en la morfología de FSP (anisocitosis, poiquilocitosis, hipocromía, etc) y en MO sobre todo la presencia de hierro en esta última^{1,2,3,5,7}.

En algunos estudios en los que únicamente se utilizó los niveles de Hb para detectar la deficiencia de hierro en los Estados Unidos solo detectó el 25% de los niños con deficiencia de hierro entre 1-5 años y solo el 37% de las mujeres en edad fértil⁴.

La técnica de azul de prusia es la forma en que más temprano se puede identificar la deficiencia de hierro, ya que se estudia la saturación en los depósitos, sin embargo es poco factible su realización rutinaria, ya que implica la toma de biopsia de médula ósea a un niño por lo demás sano.

La prueba más factible y considerada estándar de oro está basada en la determinación de hierro a través de un examen de fotocolorimetría en el que es posible establecer la cantidad de partículas de hierro circulando en el suero del paciente; esta prueba fue considerada el estándar de oro debido a que abrió la pauta a nivel mundial a muchos investigadores entre ellos el doctor Alvar Loria³² en México para la determinación de hierro y la identificación de anemia ferropriva siendo una prueba sumamente accesible y de muy bajo costo, y por otra parte dio la pauta al desarrollo de técnicas espectofotométricas automatizadas. En la que

mediante un método policromático, se miden tanto en suero como plasma las mismas características. Por lo tanto pruebas de laboratorio indirectas basadas en los índices eritrocitarios y pruebas bioquímicas basadas en el metabolismo del hierro, así como la cuenta de reticulocitos y recientemente la concentración de Hb en el reticulocito se han utilizado para identificar esta deficiencia aunque la limitante de estas pruebas es el costo aún elevado^{1,14,18}.

Una de las pruebas utilizadas para determinar la deficiencia de hierro es tomar los niveles de ferritina en suero ya que suele correlacionarse con los niveles de hierro, esta suele disminuir si los niveles de hierro se depletan y puede ser un marcador temprano de la deficiencia de hierro por lo que tiene una alta especificidad para la deficiencia de éste sobre todo si se combina con otros parámetros como la Hb; aunque cabe recordar que la ferritina también es considerado un reactante de fase aguda por lo que en muchas otras patologías puede estar elevado en otras entidades de tipo inflamatorio, en enfermedades crónicas y otras enfermedades, por lo que no es muy utilizada así como por su costo más elevado que el de las pruebas más utilizadas hasta el momento. Otra de las pruebas la saturación de transferrina (Tsat) indica la proporción de ocupación de los sitios de unión de hierro y refleja el transporte de hierro más que su almacenamiento, la saturación de transferrina es calculada de 2 valores medidos: la concentración de hierro sérico dividida entre la capacidad de fijación total de hierro expresada como porcentaje; la Tsat disminuye antes de que se desarrolle la anemia pero no lo suficiente como para detectar la depleción de hierro, es menos sensible a los cambios en el hierro que la ferritina.^{1,3,4}

El receptor de la transferrina sérica (RTf) también puede ser detectado en algunos laboratorios por inmunoanálisis, se encuentra presente en los reticulocitos cubriendo la membrana de los reticulocitos maduros, con la deficiencia de hierro en los tejidos hay un incremento proporcional en el número de receptores de transferrina, esta prueba puede ser usada como un marcador temprano de deficiencia de hierro; pero aún no es una prueba factible.^{1,3,4, 33}

La zinc-protoporfirina (ZPP) es formada cuando el zinc es incorporado dentro de la protoporfirina en lugar del hierro durante el paso final de la biosíntesis del hem,

bajo condiciones normales, la reacción con hierro predomina, pero cuando el suplemento de hierro es pobre la producción de ZPP se incrementa y la relación ZPP/Hem se eleva. Esta prueba aún no es de rutina y por lo tanto también su costo es elevado y además no es específica ya que esta relación también se eleva en enfermedades crónicas y en saturnismo (intoxicación por plomo).¹

De estas pruebas las más utilizadas como se comentó son las basadas en los índices eritrocitarios y las bioquímicas, sobre todo la basada en la espectrofotometría, ya que además de ser sencillas en su elaboración se obtienen los resultados más rápidos y sobre todo no son costosas lo cual las pone al alcance de todos nuestros pacientes.

En vista de la importancia clínica de la deficiencia de hierro tanto por la frecuencia que se ha reportado a nivel mundial, la gran prevalencia en población pediátrica en nuestro país, reportada hasta en 91% en regiones particulares, y las implicaciones en el neurodesarrollo, es indispensable tener una prueba diagnóstica eficiente, sensible y específica; así como de menor costo para identificar a aquellos pacientes que por sus características se encuentran en un mayor riesgo, o que ya padecen la enfermedad para iniciar la terapia sustitutiva tempranamente y evitar sobre todo en la edad pediátrica las secuelas que se pueden presentar secundario a la deficiencia de hierro de forma crónica.

JUSTIFICACIÓN

Ya que la deficiencia de hierro es la principal causa de anemia en la población en general y que su persistencia tiene implicaciones muy importantes en el neurodesarrollo, es indispensable tener pruebas diagnósticas que nos permitan tener una sensibilidad y especificidad óptimas, así como establecer valores predictivos positivos y negativos.

Así mismo las técnicas de automatización implementadas actualmente nos han dado valores que no correlacionan ni con la clínica ni con los índices eritrocitarios

por lo que dada la importancia de detectar esta entidad queremos valorar la eficacia del método de Beale modificado por Loria y del método Automatizado Shyncon para así determinar cual de las 2 pruebas es más efectiva para el diagnóstico de nuestros pacientes.

OBJETIVO

Establecer la utilidad de una prueba diagnóstica basada en espectrofotometría con utilización de cromógenos para la determinación de hierro sérico estableciendo sensibilidad y especificidad al compararla con la prueba por colorimetría considerada el estándar de oro.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Prospectivo, transversal, comparativo de casos y concurrentes, utilidad de prueba diagnóstica.

MATERIAL Y METODOS

Población objetivo

Todos los pacientes en edad pediátrica que puedan cursar con deficiencia de hierro.

Población Elegible

Se estudiarán 3 grupos de pacientes:

1) Aquellos con sospecha de deficiencia de hierro, 2) pacientes con sobrecarga de hierro y 3) pacientes infectados.

Todos pacientes atendidos por la consulta externa de Hematología.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se seleccionarán pacientes que acudan a la consulta externa de hematología tomando 3 grupos.

1^{er} Grupo: Pacientes menores de 18 años con historia clínica que sugiera deficiencia de hierro, cualquier género (Historia de dieta deficiente de hierro, así como manifestaciones clínicas de esta como palidez, etc).

2^o Grupo: Pacientes menores de 18 años cualquier género, con historia de múltiples transfusiones de PG y por lo tanto sobrecarga de hierro, (se considera paciente politransfundido aquel paciente que ha requerido de más de tres transfusiones).

3^{er}. Grupo: Pacientes menores de 18 años, cualquier genero que estén cursando con algún proceso infeccioso severo, (pacientes que se encuentren cursando con infecciones severas a nivel gastrointestinal, renal, etc.).

Se incluirá a todo paciente que se haya obtenido la autorización por consentimiento informado de el padre o tutor.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes que hayan recibido tratamiento con hierro oral o parenteral en las 4 semanas previas al estudio.

CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Ya que no existen en la literatura datos suficientes que sustenten información para calcular el tamaño de muestra en base a diferencias de los dos métodos se ha decidido realizar un estudio piloto en el que se incluyan 20 pacientes de cada grupo y en base a los resultados en una segunda parte del estudio realizar el cálculo del tamaño de la muestra para sensibilidad y especificidad.

DESCRIPCIÓN DEL METODO

Se realizará flebotomía a todos los pacientes previa asepsia y antisepsia tomando 10 cc de sangre, 1 tubo con anticoagulante para BH que nos determinará los parámetros hematológicos y 2 sin anticoagulante para determinar los parámetros bioquímicos, los cuales se procesarán y analizarán por los 2 métodos: el de Beale modificado por Loria y el automatizado Shyncron que se describen a continuación.

MÉTODO DE BEALE MODIFICADO POR LORIA:

Determinación de Hierro sérico.

Debido a que en el suero existe hierro que está unido firmemente a una globulina, la transferrina, la cual es estable a pH de 7, el cual se disocia totalmente a pH por debajo de 5, este método usa esta propiedad para separar el hierro de la transferrina a base de añadir un tampón ácido, una vez lograda la liberación del hierro se mide espectrofotométricamente a base de agregar un agente cromógeno (batofenanatrolina) que forma un compuesto colorido sin el hierro ferroso. Es un método por colorimetría el cual se realiza la lectura a una longitud de onda de 530 nm.

Capacidad de Fijación Total de Hierro

En el suero existe una globulina, la transferrina, que fija fuertemente al hierro. Normalmente parte de la transferrina está unida a hierro y parte está libre de hierro, para medir la capacidad de fijación total (la de la transferrina libre más la unida a hierro), se agrega hierro en exceso al suero y se incuba la mezcla para asegurarse que toda la transferrina libre queda unida al hierro. Después se agrega carbonato de magnesio y se centrifuga para eliminar el hierro libre en exceso (que quedará absorbido en el precipitado de carbonato) del hierro unido a transferrina (que estará contenido exclusivamente en el sobrenadante). Una dosificación de hierro en el sobrenadante permitirá conocer la capacidad de fijación total del suero problema.

Este método se divide en 2 fases:

1. Saturación de la transferrina con hierro y eliminación del exceso de hierro no fijado por la transferrina.
2. Medición del hierro en el sobrenadante utilizado para ello el método para medir hierro sérico.
3. Se lee el espectrofotómetro a 530 nm.

MÉTODO SYNCHRON

En este método los valores se calculan por las diluciones hechas a las muestras.

Determinación de Hierro Sérico

Este se realiza mediante reactivos de forma automatizada, siendo esta una determinación cuantitativa de hierro en suero o plasma heparinizado. El reactivo de hierro se utiliza para medir la concentración de hierro mediante un método de punto final cronometrado. En la reacción el hierro se desprende de la transferrina en virtud del ácido acético y es reducido a su estado ferroso por la hidroxilamina y el tioglicolato, y el ion ferroso forma un complejo con el reactivo Hierro FerroZine. El sistema Synchron suministra en forma automática los volúmenes correctos de muestra y reactivo en una cubeta, la proporción utilizada es un aparte de muestra a 8 partes de reactivo; el sistema controla el cambio de absorbancia a 560 nanómetros, este cambio es directamente proporcional a la concentración de hierro en la muestra y es usado para calcular y expresar por este sistema la concentración y hierro.

Capacidad total de Fijación e Hierro

Al añadir un exceso de ion férrico, en la forma de cloruro férrico, la transferrina en suero o en plasma heparinizado se satura completamente. Todo el hierro no ligado a la transferrina es absorbido por el óxido de aluminio en la columna,; el reactivo de Capacidad Total de Fijación de hierro (IBCT) mide la transferrina ligada a hierro en el sobrenadante.

El reactivo capacidad de fijación total del hierro se utiliza para medir la concentración de hierro con un método de punto final en un intervalo de tiempo fijo, en la reacción el hierro se desprende de la transferrina en virtud del ácido acético y es reducido a su estado ferroso por la hidroxilamina y el tioglucolato. El ion ferroso forma inmediatamente un complejo con el reactivo Hierro ferroZine.

También se registrarán los índices eritrocitarios reportados en la BH (VCM, CMH, CMHC, RDW). Y se obtendrá el índice de correlación con los niveles de hierro sérico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para cada grupo se obtendrán valores de tendencia central y de dispersión para conocer los valores en cada uno de ellos (promedio, varianza y desviación estándar).

Con los valores obtenidos de los pacientes con sobrecarga de Fe y con anemia ferropriva se realizarán tablas de contingencia a partir de las que se calcularán especificidad y sensibilidad, así como valores predictivos positivos y negativos. Para todo ello se utilizará el programa SPSS versión 12 para Windows.

FACTIBILIDAD DEL ESTUDIO

Recursos Humanos: Tesista para la realización de cuestionario y captura de pacientes, personal de laboratorio de hematología y de laboratorio de química clínica central de INP para la realización de las pruebas de índices eritrocitarios y pruebas bioquímicas para determinar la deficiencia de hierro.

Recursos Materiales: Se cuenta con el equipo automatizado Synchron así como con los reactivos para el método de Beale, sistema para realizar BHC.

CONSIDERACIONES ETICAS

Para el estudio se requiere realizar flebotomía a cada uno de los pacientes tomando 12 cc de sangre: 2 cc para BH y FSP, 4 cc para método de Béale, 4 cc para Synchron; lo cual representa un riesgo mínimo para los pacientes. A todos se les solicitará consentimiento informado de los padres o tutor, informándoles del beneficio de detectar en forma temprana una deficiencia de hierro y evitar así todas las complicaciones principalmente en el neurodesarrollo, estableciendo el manejo adecuado de forma inmediata.

Se someterá este protocolo a el comité de ética para su aprobación.

RESULTADOS.

Se estudio un total de 61 pacientes que fueron distribuidos en tres grupos de acuerdo a sus antecedentes y/o motivo de consulta en Hematología: 21 pacientes correspondieron al grupo de deficiencia de Fe, 20 pacientes cursaban con infección crónica y 20 pacientes tenían sobrecarga de hierro.

Se realizó análisis de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos utilizando el programa SPSS 12.0 para Windows, con tablas 2X2, y se tomó un valor de 0.80 para considerar la concordancia de la prueba. Se compararon en primer lugar a los pacientes a quienes se había catalogado clínicamente con deficiencia de Fe contra el resto del grupo y en un segundo análisis se comparo a los pacientes con antecedentes que les predisponían a sobrecarga de Fe contra el resto de los pacientes. Los resultados obtenidos se incluyen en la tabla 1.

Tabla 1.

	Sensibilidad	Especificidad	VP (+)	VP(-)
Def Fe/Beale	.28	.64	.09	.87
Automatizado	.72	.87	.76	.85
Sobrecarga Fe/Beale	.53	.73	.40	.82
Automatizado	.90	.82	.72	.94

Con estos resultados podemos observar que el método de Beale es mucho más útil para establecer que si un paciente tiene la prueba negativa, en el 87% de los casos no tendrá deficiencia de hierro, sin embargo su utilidad para confirmar el diagnóstico es mínima observando un patrón similar en los pacientes con sobrecarga de Fe, mientras que la prueba automatizada aunque es útil en los pacientes con deficiencia de hierro es mas útil para establecer la ausencia de deficiencia de Fe, y muy útil cuando se pretende estudiar sobrecarga de Fe.

Se tomaron en cuenta otros parámetros referidos en la literatura como indicadores de deficiencia de hierro.

El primero de ellos es el volumen corpuscular medio, reportado como un parámetro que se altera previo a la aparición de anemia en la circulación, y se realizó el mismo análisis (tabla2).

Tabla 2.

	Sensibilidad	Especificidad	VP (+)	VP(-)
VCM <76/Beale	.28	.74	.12	.88
Automatizado	.59	.92	.81	.80
VCM >100/Beale	.20	.75	.06	.91
Automatizado	.80	.62	.16	.97

Los resultados son muy similares a los encontrados cuando se analizó de acuerdo al diagnóstico clínico de deficiencia de Fe, y son discretamente mejores cuando el estudio se hace en forma automatizada, aunque en este caso es mucho mejor para establecer de acuerdo al VCM cuales son los pacientes con deficiencia de Fe.

Algunos autores han mencionado a la amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) como el primero de los índices eritrocitarios en alterarse, incrementado rápidamente su valor cuando disminuye el Fe sérico (libro Rapaport), por lo que decidimos realizar el mismo análisis tomando en cuenta el ADE con los mismos parámetros que las dos variables anteriores con los siguientes resultados (tabla 3).

Tabla 3.

	Sensibilidad	Especificidad	VP (+)	VP(-)
ADE >15/Beale	.57	.25	.11	.82
Automatizado	.77	.30	.38	.70

En este caso solo se analizó un ADE aumentado tomando en cuenta solo la deficiencia de Fe, ya que hasta el momento no se ha referido que haya modificaciones en pacientes con sobrecarga de Fe. Por otra parte en este estudio

se tomó a pacientes con anemias hemolíticas hereditarias como grupo control, esta condición per se está asociada a un ADE elevado a que con frecuencia se encuentra anisocitosis y poiquilocitosis como consecuencia del fenómeno hemolítico y regenerativo inherente a la enfermedad sin que necesariamente traduzcan el estado del Fe en el organismo.

DISCUSION:

La técnica de Beale para la determinación del Fe sérico y el estado de la transferina ha sido considerado como el estándar de oro hasta hace muy poco tiempo en que surgió y se encuentra disponible cada vez en forma mas amplia un método automatizado, sin embargo en una búsqueda exhaustiva de la literatura no se logró encontrar estudios de sensibilidad y especificidad para ninguna de las dos pruebas, lo que nos motivó a realizar este estudio.

Nuestros resultados indican que el método automatizado tiene una mayor capacidad para discriminar tanto los estados de deficiencia, como de sobre carga de Fe, aún cuando esta condición no es constante a lo largo del estudio ni al hacer la comparación con otros parámetros referidos en la literatura, condición que puede tener varias explicaciones y a continuación se enlistan:

- El grupo control lo constituyeron dos grupos de pacientes: el primero de ellos con sobrecarga de Fe ya conocidos por tratarse de pacientes con anemias hemolíticas hereditarias que constantemente requieren de transfusiones, en este grupo es evidente la utilidad de la prueba, y las pequeñas variaciones encontradas y los valores limítrofes, particularmente en los valores predictivos, muy probablemente está condicionada por el tamaño de la muestra. El segundo grupo de pacientes lo conformaron pacientes con procesos infecciosos con una evolución mayor a 10 días, aunque en algunos de los casos se trató de cuadros subagudos y en otros crónicos en este grupo de pacientes se ha reportado una mala utilización de Fe traducido como anemia con depósitos elevados, consideramos, en

forma retrospectiva, que este grupo puede haber representado un confusor para el estudio.

- Con frecuencia los pacientes con diagnóstico probable de anemia ferropriva que son enviados al Servicio de Hematología tienen historia de haber recibido tratamiento con Fe oral, predominantemente con sales férricas, por periodos de tiempo variables con pobre a nula respuesta al tratamiento, este es un dato que de inicio no fue considerado como importante, pero que es posible que haya influido en los resultados.

En cuanto a la prueba de Beale es muy importante considerar la variabilidad que representa el error humano, y que con frecuencia es sumamente difícil de controlar dada la gran cantidad de variables que se deben de tomar en cuenta (pipetas, espectrofotómetro, calidad de tubos, etc), además de la variabilidad inter e intra-observador, que hasta el momento no han sido medidas.

Con el presente estudio piloto, podemos concluir:

El método automatizado es útil para identificar pacientes con historia de sobrecarga de Fe y esperar una prueba positiva, así como para descartar la condición en aquellos pacientes que tienen la prueba negativa.

Cuando se toma en cuenta los índices eritrocitarios, particularmente VCM, la sensibilidad, especificidad y valores predicativos obtenidos son suficientes para apoyar o descartar la anemia por deficiencia de Fe, no así para establecer la condición de sobrecarga.

Es necesario en una segunda etapa de este estudio, incluir niños sanos tomando en cuenta los niveles de Hb y realizar una correlación con los antecedentes nutricionales, lo que seguramente nos permitirá establecer una mejor evaluación de la prueba.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chen WA, Lesperance L, Bernstein H. Screening for Iron Deficiency. *Ped in Rev* 2002;23(5): 171-178.
2. Aggett PJ, Agostoni C, Axelsson I, Bresson JL, Goulet O, Hemell O, Koletzko B, Lafaber HL, Michaelsen KF, y cols. Iron Metabolism and Requirements in Early Childhood: Do We Know Enough?: A Commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J.Ped. Gastroent. Nutr.* 2002;34(4):337-345.
3. Domellöf M, Dewey KG, Lönnerdal B, Cohen RJ, Hemell O. the diagnostic Criteria for Iron Deficiency in Infants Should Be Reevaluated. *Am Soc Nutr Scien* 2002;Sep:3680-3686.
4. Mei Z, Parvanta I, Cogswell , Gunter EW, Grummer-Strawn M. Erythrocyte protoporphyrin or hemoglobin: which is better screening test for iron deficiency in children and women?. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1229-1233.
5. Osky FA. Iron Deficiency in Infancy and Childhood. *The New Engl J Med* 1993;329(3):190-193.
6. Chua E, Clague JE, Sharma AK, Horan MA, Lombard M. *Q J Med* 1999;92:587-594.
7. Evatt L, Gibbs W, Lewis SM, McArthur J. Fundamentos de diagnóstico hematológico. *Anemia*. 1995;1-26.
8. Dallman PR. Biochemical Basis For The Manifestations of Iron Deficiency. *Ann. Rev. Nutr.* 1996;6:13-40.
9. Gimferrer E, Ubeda J, Royo MT, Maringó GJ, marco N, Fernández N, Oliver A, Padrós R, Gich I. Serum transferrin receptor in patients with iron deficiency. *Bio-Ferr* 1997;2:3.
10. Viswanath D, Hegde R, Murthy V, Nagashree S, Shah R. Red Cell Distribution Width in the diagnosis of Iron Deficiency Anemia. *Ind J Ped* 2001;68:1117-1119.
11. Moy RJ. New Approaches to the Detection and Prevention of Iron Deficiency Anaemia. *J Trop Ped* 1999;45:320-321.
12. Walter T, De Andraca I, Chadud P, Perales CG. Iron Deficiency Anaemia: Adverse Effects on Infant Psicomotor Development. *Pediatrics* 1989;84:7-17.
13. Kohli-Kumar M. Screening for Anemia in Children: AAP Recommendations- A Critique. *Pediatrics* 2001;108(3):1-2.
14. Kim SK, Cheong WS, Jun YH, Choi JW, Son BK. Red blood cell indices and iron status according to feeding practices in infants and young children. *Acta Paediatr* 1996;85:139-144.

15. Nelson M, White J, Rhodes C. Haemoglobin, ferritin, and iron intakes in British children aged 12-14 years: a preliminary investigation. *Brit J Nutr* 1993;70:147-155.
16. Vizia B, Poggi V, Conenna R, Fiorillo A, Scippa L. Iron Absorption and Iron Deficiency in Infants and Children with Gastrointestinal Diseases. *J Pediatr Gastr and Nutr* 1992; 14:21-26.
17. Siegel RM, LaGrone DH. The Use of Zinc Protoporphyrin in Screening Young Children for Iron Deficiency. *Clin Ped* 1994;August:473-479.
18. Cook JD, Monsen ER. Food iron absorption in human subjects.III. Comparison of the effect of animal proteins on nonheme iron absorption. *The Am J Clin Nutr* 1976;29:859-867.
19. Ruiz Argüelles G. Fundamentos de Hematología. 2ª edición 1998:45-59.
20. Olive Badosa A. Ferropenia y anemia ferropriva en niños.1977; 1ª edición: 17-40
21. Hoffman R, Benz E, Shattil S, Furie B, Cohen H, Silberstein L. Hematology Basis Principles and Practice. 2ª edition. 1995:492-522.
22. Nathan D, Orkin S. Hematology of Infancy and Childhood. 5ª edition 1998; 1:423-461.
23. Jiménez E, Wolf AW. Long-term Developmental Outcome of Infants with Iron Deficiency. *N Engl J Med*.1991;325:687-694.
24. Graham EA, the Changing Face of Anemia in Infancy. *Ped in Rev* 1994;15:175-183.
25. Lozoff B, Wolf AW, Jimenez R. Iron-deficiency Anemia and Infant Development: Effects of Extended Oral Iron Therapy. *J Pediatr* 1996;129:382-389.
26. Lozoff B, Jimenez e, Hagen J, Mollen E, Wolf AW. Poorer behavioral and developmental outcome more than 10 years after treatment for iron deficiency in infancy. *Pediatrics* 2000;105:4.
27. Pappas DE, Cheng TL. Iron Deficiency anemia. *Pediatr Rev*. 1998;19:321-322.
28. Picciano MF, Smiciklas WH, Birch LL, Murria KL, McConahy KL. Nutritional guidance is hended during dietary transition in early childhood. *Pediatrics* 2000;106:109-114.

29. Eden AN, Mir MA. Iron Deficiency in 1 to 3 years old children. A pediatric failure?. Arch Pediatr Adolesc Med. 1997;151:986-988.
30. Rettmer RL, Carlson TH, Labbé RF. Zinc protoporphyrin/heme ratio for diagnosis of preanemic iron deficiency. Pediatrics 1999;104:3.
31. Beale RN, Bostrom JO, Taylos RF. Improved rapid methods for the determination of iron content and binding capacity of serum. J. Clin. Path. 1962;15:156-160.
32. Loria A, Monge B. Técnicas de dosificaciones séricas de hierro y de capacidad de fijación de hierro. Departamento de Hematología, Instituto Nacional de la Nutrición. México 429-449.
33. Beguin Y, Clemons G, Pootrakul P, y Fillet G. Quantitative Assessment of Erythropoiesis and Functional Classification of Anemia Based on Measurements of Serum Transferrin Receptor and Erythropoietin. Blood. 1993;Vol 81(4): 1067-1076.

INP
CENTRO DE INFORMACION
Y DOCUMENTACION

EXAMENES DE LABORATORIO

Indices eritrocitarios:

Hb

Hto

VCM

CMH

CMHC

RDW

Reticulocitos

Indices Bioquímicos: 1)Metodo de Beale Modificado por Loria 2) Método Synchron

Hierro Sérico

Capacidad de fijación total de hierro

Porcentaje de Saturación de hierro

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por este medio y con apoyo en lo previsto en la Ley General de Salud, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica, en este acto, otorgo al Instituto Nacional de Pediatría mi autorización, como padre, madre o tutor, directamente responsable del cuidado y atención del menor _____

A que se realicen las pruebas serológicas para la determinación de deficiencia de hierro por medio de extracción de 10 cc de sangre periférica por punción venosa, la cual se realiza de forma estéril con solución antiséptica con material estéril desechable el cual se utiliza una única vez y se desecha.

Estoy enterado de las reacciones que se pueden presentar secundario a este procedimiento (Dolor local, reacción alérgica al material utilizado, aparición de equimosis o hematoma), las que me han sido explicadas ampliamente y en caso de presentar alguna molestia me puedo comunicar con la Dra. Patricia Galindo Delgado del servicio de Hematología al teléfono 10-84-09-00 extensiones 1329 y 1483 para cualquier duda.

Estoy enterado y acepto tal procedimiento como parte del manejo para el diagnóstico de mi paciente, y que los beneficios que se pretende obtener es un diagnóstico específico y temprano para lograr la terapéutica sustitutiva adecuada para mejorar el estado clínico de mi paciente y evitar complicaciones secundarias a esta enfermedad.

Estoy informado que los procedimientos serán realizados por personal calificado por el servicio de toma de muestras de laboratorio los cuales son químicos que laboran para este instituto. Así mismo autorizo al médico encargado de la atención de mi paciente para que sean utilizados e interpretados y poder iniciar una terapéutica en beneficio de mi paciente.

Se otorga el presente Consentimiento Bajo Información en la ciudad e México, distrito Federal a los _____ días del mes de _____ del año _____.

AUTORIZO

Firma: _____
Nombre completo: _____
Parentesco: _____
Domicilio: _____
Identificación: _____

TESTIGOS

Nombre completo: _____	Nombre completo: _____
Domicilio: _____	Domicilio: _____
Firma: _____	Firma: _____

INP
CENTRO DE INFORMACIÓN Y
DOCUMENTACIÓN