UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA.

Tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico

AUTOR:

Jorge Hernan Castillo Ami

DIRECTOR:

Dra. Ximena Cleofé Vásquez Cabrera

LOJA 2015

CERTIFICACIÓN

Loja, 16 de Marzo del 2015

Dra. Ximena Cleofé Vásquez Cabrera
DOCENTE DEL ÁREA DE LA SALUD HUMANA
DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación: **DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA**, de autoría del señor Jorge Hernan Castillo Ami, estudiante del VIII Módulo de la Carrera de Laboratorio Clínico previo a la obtención de grado de Licenciado en Laboratorio Clínico, ha sido elaborada bajo mi dirección y una vez revisada autorizo su presentación ante el tribunal correspondiente.

Atentamente:

……

Dra. Ximena Cleofé Vásquez Cabrera
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, Jorge Hernan Castillo Ami, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca Virtual.

Autor: Jorge Hernan Castillo Ami

Firma: _____

Cédula 1104496706

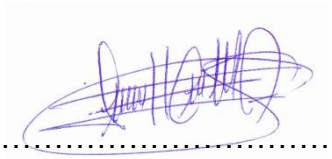
Fecha: 16 de Marzo del 2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, **Jorge Hernan Castillo Ami** declaro ser autor de la tesis titulada **DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA,** como requisito para optar el grado de Licenciado en Laboratorio Clínico: autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el repositorio digital institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDL, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad. La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 16 días del mes de marzo del 2015. Firma el autor.



Firma: ……

Autor: Jorge Hernan Castillo Ami

Cédula: 110449670-6

Dirección: Ciudadela Clodoveo Jaramillo Alvarado

E-mail: jorgecastilloami@hotmail.com

Celular: 0969500445

Datos complementarios:

Directora de tesis: Dra. Ximena Cleofé Vásquez Cabrera.

Presidente del Tribunal: Dr. Luis Morocho Yaguana

Primer Vocal: Lic. Patricia Chávez Poma

Segundo Vocal: Dra. Mariela Idrovo Vallejo

DEDICATORIA

Quiero agradecer primeramente al ser más maravilloso que es Dios, por darme la oportunidad de vivir día a día, estas experiencias tan bonitas y satisfactorias.

A mis padres por darme el apoyo necesario e indispensable que un hijo necesita en estos momentos tan cruciales de la vida y por ser ejemplo de mi más profunda admiración.

Dedico con mucho amor y cariño este trabajo a mi hermana por haber servido como pilar y fuente de aliento y apoyo en esos días que se tornaron largos y agotadores.

A mis familiares que en el transcurso de mi carrera estuvieron presentes brindándome la fortaleza que necesitaba para seguir adelante.

De manera muy especial dedico este trabajo al ser que más amo en la vida que es mi hijo Erick quien con su sonrisa y ojos llenos de felicidad me han dado día a día el impulso que necesité para seguir adelante.

Con gratitud a todos mis amigos y amigas que durante la carrera supieron apoyarme e hicieron que con entusiasmos y cariño estos años estén llenos de felicidad y alegría.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, por ser la base fundamental de mi formación profesional, a mis docentes ejes esenciales de mis conocimientos en especial a mi directora Dra. Ximena Vásquez C, quien por su confianza, conocimientos, orientaciones, persistencia, paciencia y motivación en la elaboración del trabajo ha sido fundamental para mi formación en la presente investigación.

A los docentes de la carrera de Laboratorio Clínico quienes con su paciencia y conocimiento día a día me formaron como profesional y ser humano.

Al Dr. Segundo Barragán por haberme permitido realizar la presente investigación y además por abrirme las puertas de los Laboratorios de La Carrera de Veterinaria para que en ellos ponga en práctica los conocimientos, los mismos que serán de mucha ayuda en mi etapa como profesional.

También es muy grato poder expresar mi agradecimiento al Hospital Regional Isidro Ayora de la ciudad de Loja, en donde encontré todo el apoyo lo cual me permitió realizar el presente estudio y análisis.

De manera muy especial un agradecimiento a la Lic. Emma Flores que me ayudado como guía en el proyecto investigativo, y a la Dra. Ximena Vásquez C. directora de tesis por su paciencia y aporte académico para el desarrollo del presente trabajo.

Jorge Hernan Castillo Ami

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA.

2. RESUMEN

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria, sistémica, crónica y autoinmune, de etiología desconocida, que afecta primariamente las articulaciones de forma sistémica y centrípeta (1). Si bien cualquier persona la puede padecer, es más común en mujeres, su inicio es entre 25 y 35 años de edad y tiene un cierto factor genético, por lo que hijos de pacientes con esta enfermedad, están más propensos a padecerla (2). Es por ello que en el presente trabajo investigativo se efectuó la determinación de anticuerpos anti-ccp en personas menores de 40 años como ayuda para el diagnóstico temprano de artritis reumatoidea y relacionar los resultados obtenidos por edad, género y el grado de consanguinidad de las personas que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de Loja. El estudio es descriptivo de corte transversal, con una muestra de 80 personas que cumplieron con los criterios de inclusión, a las que se les realizó el análisis de muestras sanguíneas mediante un inmunoensayo enzimático indirecto para la medición cuantitativa de autoanticuerpos de clase IgG contra péptidos cíclicos citrulinados (CCP); la importancia de la especificidad de los anticuerpos anti-CCP radica en la diferenciación de la artritis reumatoide con diversas enfermedades que pueden presentar unas manifestaciones clínicas semejantes en sus inicios (3); se observó que 11 casos (13,75%) fueron positivos con un predominio del género femenino con el 81,81% y en el género masculino con el 18,19%. De los casos positivos un 18,19% está distribuido en el grupo de edad de 31 a 35 años, mientras que el 81,81% corresponde al grupo de edad de 36 a 40 años. En cuanto a la relación de los casos de ANTI-CCP con el grado de consanguinidad se observó que el mayor porcentaje es el de la madre con 27,28%, el 9,09% el padre, el 9,09% la tía, el 18,18% la abuela, el 9,09% la hermana, el 18,18% Ninguno; y el 9,09% desconoce. En este estudio el mayor porcentaje de los casos positivos se encuentra en el grupo de edad comprendido entre los 36 a 40 años, y el género femenino es el más afectado con esta dolencia, con predominio de descendencia por parte de la madre.

Palabras Claves: *Artritis Reumatoide, ANTI-CCP, Sensibilidad, Especificidad.*

SUMMARY

Rheumatoid Arthritis (RA) is an inflammatory, systemic, chronic and autoimmune disease, of unknown etiology, that primarily affects the joints in a systemic and centripetal way (1). While any person can suffer, it is more common in women, its onset is between 25 and 35 years of age and have a certain genetic factor, so that children of patients with this disease, are more prone to suffer from it (2). That is why in this research work was performed the determining anti-ccp antibodies in people younger than 40 years as an aid to early diagnosis of rheumatoid arthritis and relate the results obtained by age, gender and degree of consanguinity of people who come to the Regional Hospital Isidro Ayora of Loja. The study is descriptive cross-sectional, with a sample of 80 people that complied with the inclusion criteria, which were performed analysis of blood samples by an indirect enzyme immunoassay for the quantitative measurement of IgG class autoantibodies against cyclic peptides citrullinated (CCP); the importance of the specificity of anti-CCP antibodies lies in the differentiation of rheumatoid arthritis with various diseases that may present a similar clinical manifestations in its beginnings (3); found that 11 cases (13,75%) were positive with a predominance of female gender with 81,81% and in the masculine gender with 18,19%. Of the positive cases, a 18,19% is distributed in the age group of 31 to 35 years, while 81,81% are in the age group of 36 to 40 years. As for the relation of cases ANTI-CCP with the degree of consanguinity was observed that the highest percentage is the mother with 27,28%, 9,09% the father, 9,09% the aunt, 18,18% the grandmother, 9,09% the sister, 18,18% None; and 9,09% unknown. In this study the highest percentage of positive cases is found in the group aged between 36 to 40 years and the female gender is the most affected with this ailment, with a predominance of descendants by the mother.

Keywords: *Rheumatoid Arthritis, ANTI-CCP, Sensitivity, Specificity.*

3. INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una de las enfermedades autoinmunes más frecuentes. Es una inflamación de etiología desconocida caracterizada por una poliartritis crónica que puede conducir a la destrucción de cartílago y hueso causando incapacidad permanente. Una de las características de la AR es la presencia de autoanticuerpos en la circulación. Estos pueden contribuir directamente a la respuesta inflamatoria. Se han implicado tanto mecanismos humorales como celulares en los eventos que inician y perpetúan la patogénesis de la enfermedad. La presencia de autoanticuerpos de diversas especificidades en el suero de pacientes, refleja la participación de procesos autoinmunes humorales (4). En la AR, el foco de la inflamación se encuentra en la membrana sinovial, el tejido que recubre la articulación. Las células del sistema inmunológico liberan sustancias químicas que causan inflamación. Dichas sustancias químicas pueden dañar el cartílago (el tejido que sirve de amortiguación entre las articulaciones) y los huesos. Su curso altamente variable e impredecible es una de las razones para la búsqueda de factores pronósticos que contribuyan al desarrollo de la enfermedad (5).

Desde las fases iniciales de la enfermedad, la AR afecta de manera significativa la calidad de vida de las personas que la padecen, no sólo desde el punto de vista físico, sino también en el aspecto laboral, social, psicológico y económico. Un 60-90% de los pacientes que la padecen tienen una evolución crónica persistente con deterioro progresivo (6).

Una manera de distinguir la AR de otros tipos de artritis es por el patrón de las articulaciones afectadas. En la AR pueden afectarse todas las articulaciones sinoviales, en forma simétrica, pero hay una gran preferencia por las articulaciones pequeñas de manos y pies, por lo general, no afecta las articulaciones que están más próximas a las uñas; más bien la afección a estas zonas es causada por la osteoartritis (7).

Es una enfermedad frecuente y su prevalencia se encuentra entre 0.5% a 1% a nivel mundial. En estudios realizados en distintas poblaciones de América Latina, la prevalencia es del 0.5%**.** Puede presentarse en todas las edades, desde la niñez y adolescencia (Artritis Idiopática Juvenil), la juventud, edad media y en la vejez, en la que debemos distinguirla principalmente de la Osteoartrosis. La edad más frecuente de aparición es entre los 35 a 50 años.

Es importante entender que es una enfermedad heterogénea, con distintos tipos de comienzo y evolución diferente en cada paciente. En su inicio puede ser difícil su diagnóstico en algunos pacientes ya que puede simular otras enfermedades. La evaluación inicial de un paciente con AR incluye: historia clínica, exploración física, búsqueda de síntomas de actividad, estado funcional, evidencias de inflamación articular, problemas mecánicos articulares, presencia de compromiso extraarticular y comorbilidades.

Las enfermedades reumáticas afectan a más del 50% de la población y de ellas la AR es la patología más incapacitante.

En Grecia, un estudio en 8547 personas mayores de 19 años, reporta el 0.68% de prevalencia. Una investigación realizada en 7050 individuos del Reino Unido informa un 0.81%. En Filipinas existe una prevalencia de AR 0.17%; en América Latina y el Caribe hay gran variabilidad, una prevalencia global del 0.2% entre personas mayores de 15 años; la prevalencia de AR en la ciudad de México del 0.3% entre personas mayores de 18 años. En un estudio realizado en EEUU se encontró una incidencia anual global de 48 casos/100,000 habitantes que aumentaba con la edad.

Si extrapolamos la prevalencia de la enfermedad en América Latina, en el Ecuador existirían aproximadamente 52000 pacientes con esta dolencia.

En Ecuador, un estudio realizado a 1500 pacientes mayores de 18 años, la prevalencia de AR fue de 0.9%. En Loja en el año 2011 se presentó el 1% de casos con AR. En general se ha estimado que la prevalencia en América Latina es del 0.4% (8).

La frecuencia en los familiares cercanos de los pacientes es mayor que en la población general, en la que la prevalencia oscila entre 0,24% y 1%, siendo de aproximadamente 0,4% en la población latinoamericana. A partir de estudios en gemelos, se estima que la heredabilidad de la AR es aproximadamente del 60%, independientemente de la prevalencia, género, edad de inicio o gravedad de la enfermedad (9).

El género femenino la padece con más frecuencia que el género masculino existiendo una relación de 4 a 6 mujeres por cada hombre.

En la actualidad existe un estudio tan preciso que incluso se le considera predictivo, es decir, puede dar positivo entre 3 a 5 años antes de la aparición de los primeros síntomas. Esta prueba se denomina Anticuerpos Anti-CCP la cual nos da resultados positivos antes del debut clínico de la enfermedad, lo que resulta favorable tanto para el paciente como al médico para amortiguar los síntomas incapacitantes que se arraigan de esta enfermedad. Tiene una alta especificidad (95-98%) y sensibilidad (70%) a diferencia del Factor reumatoide que tiene una especificidad (50-80%) y sensibilidad del (70%), pero la segunda debe ir acompañada de otro tipo de análisis de laboratorio para confirmar la enfermedad e incluso solo se encuentra elevada cuando los síntomas ya están presentes (10).

La importancia de la especificidad de los anticuerpos anti-CCP radica en la diferenciación de la artritis reumatoide con diversas enfermedades que pueden presentar unas manifestaciones clínicas semejantes en sus inicios.

Las ventajas de la determinación mediante ELISA anti-CCP respecto a las otras técnicas son: mayor sensibilidad (determinación de un mayor número de casos), al tratarse de una técnica cuantitativa, de fácil realización y gran reproducibilidad, lo que permite su estandarización y la posibilidad de ser utilizada por la mayoría de los laboratorios de inmunología y, por tanto, permitir su aplicación en la clínica diaria.

El presente estudio investigativo: **DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA** tiene el objetivo de determinar anticuerpos ANTI-CCP y correlacionar los resultados obtenidos por edad, género y el grado de consanguinidad de las personas que acuden al Hospital Regional Isidro Ayora de Loja. Se estudiaron 80 muestras de suero sanguíneo con la técnica de **IMTEC-CCP-Antibodies con ELISA.**

Finalmente al realizar los análisis correspondientes se obtuvo 11 casos positivos (13,75%), con un predominio del género femenino con el 81,81%; dentro del grupo de edad el mayor porcentaje se encuentra dentro del rango de 36 a 40 años con un 81,81%, y en cuanto al grado de consanguinidad el porcentaje mayor está en la madre con 27,28%, la abuela con el 18,18%, siendo estos los porcentajes más relevantes en esta investigación.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 ARTRITIS REUMATOIDEA

4.1.1 Definición.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad sistémica autoinmune, clínicamente se caracteriza por ser una poliartritis crónica simétrica, destructiva y erosiva, que afecta prácticamente a cualquier articulación pero de manera predominante a pequeñas articulaciones de las manos y pies. Produce una destrucción progresiva con distintos grados de deformidad e incapacidad funcional. En ocasiones, su comportamiento es extraarticular pudiendo afectar a diversos órganos y sistemas, como los ojos, pulmones y pleura, corazón y pericardio, piel o vasos sanguíneos. Aunque el trastorno es de causa desconocida, la autoinmunidad juega un papel primordial en que sea una enfermedad crónica y en la forma como la enfermedad progresa (11).

Aproximadamente 1% de la población mundial está afectada por la artritis reumatoide, siendo las mujeres tres veces más propensas a la enfermedad que los hombres. Algunos estudios evidencian un predominio de la enfermedad por debajo de los 35 años de edad, sin embargo, puede aparecer a cualquier edad. La artritis reumatoide puede llegar a ser una enfermedad muy dolorosa e incapacitante. Se diagnostica fundamentalmente por los signos y síntomas clínicos, así como con ciertos exámenes de laboratorio, incluyendo el factor reumatoideo y la radiografía (12).

Existen varias opciones de tratamiento para la artritis reumatoide, incluyendo fisioterapia, terapia ocupacional y manejo no-farmacológico. Los analgésicos y medicamentos antiinflamatorios, así como los esteroides son indicados en pacientes con artritis reumatoide para suprimir los síntomas, mientras que existen fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad o FARME que a

menudo se requieren con el fin de inhibir o detener el proceso inmunitario de base, prevenir daños a largo plazo y mejorar el desenlace de la enfermedad. Recientemente, se han propuesto nuevos medicamentos a base de nuevos grupos biológicos para aumentar las opciones de tratamiento farmacológico (13).

4.1.2 Epidemiología.

La prevalencia de la artritis reumatoide es de un 1% aproximadamente, y varía sustancialmente según el criterio de diagnóstico utilizado. La incidencia es de aproximadamente 3 casos nuevos cada año por cada 10 mil habitantes de la población. La distribución de la enfermedad es mundial, no obstante hay zonas con mayor prevalencia, como los nativos americanos y zonas con menor gravedad, como el África subsahariana y la población negra del Caribe.

Existe también una establecida variación entre géneros: razón varón/mujer de 1/3 aproximadamente, tal vez por la influencia de los estrógenos. La variación disminuye con la edad. En las mujeres, la enfermedad suele iniciarse entre los 30 y los 50 años, mientras que en los hombres se produce generalmente unos años más tarde y la prevalencia aumenta con la edad para ambos sexos (14).

4.1.3 Etiología.

Es una enfermedad autoinmune, esto significa que ciertas células del sistema inmunológico no funcionan correctamente y comienzan a atacar los tejidos sanos: en este caso las articulaciones. Se desconoce la causa. Sin embargo, las nuevas investigaciones nos dan una mejor idea de lo que hace que el sistema inmunológico ataque al cuerpo y genere la inflamación. El foco de la inflamación se encuentra en la membrana sinovial, el tejido que recubre la articulación. Las células del sistema inmunológico liberan sustancias químicas que causan inflamación. Dichas sustancias químicas pueden dañar el cartílago (el tejido que sirve de amortiguación entre las articulaciones) y los huesos.

Existen otros factores que probablemente también intervienen, por ejemplo, los genes que afectan el sistema inmunológico pueden hacer que algunas personas sean más propensas a sufrir artritis (15).

4.1.4 Factores predisponentes.

4.1.4.1 Factores genéticos.

Los estudios epidemiológicos muestran una concordancia bastante baja de artritis reumatoide en los gemelos homocigotos (12-15%), en cualquier caso es más alta que en heterocigotos (3-5%). Esto implica que los factores ambientales juegan un papel importante.

Asimismo, el odds ratio (aumento del riesgo de padecer la enfermedad) en familiares de primer grado de pacientes con artritis reumatoide es de 1'5 (10% de los pacientes con familiar de primer grado asociado).

Existen pruebas de asociación de la artritis reumatoide con alelos específicos del HLA-DR4 (70% frente al 30% del grupo control) y HLA-DR1 (epítopo compartido). En concreto, pacientes que presentan leucina, glutamina, lisina, arginina y alanina en la posición 70 a 74 de la tercera región hipervariable de las cadenas HLA-DR (presentadoras de antígenos) (13).

4.1.4.2 Factores ambientales.

4.1.4.2.1 ***Género femenino:*** Dado que los estrógenos intervienen en la patogenia, inhibiendo a los linfocitos T inhibidores y estimulando a los linfocitos T colaboradores o facilitadores.

4.1.4.2.2 ***Tabaquismo:*** Fumar provoca un aumento de la citrulinización de los factores reumatoides.

4.1.4.2.3 ***Infecciones:*** Como factor potencialmente desencadenante. En concreto:

- Infecciones bacterianas: *Proteusmirabilis.*
- Infecciones por *mycoplasmas.*
- Infecciones virales: *virus de la hepatitis B, parvovirus B19, retrovirus, virus de Epstein-Barr.*

4.1.5 Patogenia.

La patogenia de la artritis reumatoide consiste en que a través de la intervención de factores humorales y celulares, particularmente linfocitos T CD4, se inicia un proceso en el cual las moléculas mediadoras de la inflamación como las prostaglandinas, tromboxanos, citocinas, factores de crecimiento, moléculas de adhesión y metaloproteasas, atraen y activan células de la sangre periférica, produciendo proliferación y activación de los sinoviocitos, invadiendo y destruyendo el cartílago articular, el hueso subcondral, tendones y ligamentos.

En general, podemos decir que la AR ligera tiene un comienzo más o menos indoloro con manifestación mínima de rigidez o envaramiento matinal. En la forma moderada hay rigidez discreta con trastornos funcionales manifiestos, en tanto que en la forma severa existe marcada limitación funcional desde el inicio con rigidez acentuada y toma evidente del estado general.

La forma más característica de esta enfermedad es la afección bilateral y simétrica de las articulaciones e inflamación de las interfalángicas proximales, metacarpofalángicas y radiocarpianas; puede ser monoarticular o dar el cuadro de una tendinitis, bursitis, etc. La inflamación articular dura, generalmente, más de 6 semanas, y el tiempo transcurrido entre dos tomas articulares no excede de 3 meses.

Durante la evolución de la AR, se manifiesta engrosamiento sinovial, deformidad en huso de las articulaciones interfalángicas proximales y daño de las metacarpofalángicas.

4.1.6 Cuadro Clínico.

La rigidez matinal -que caracteriza a la AR- tiene valor y se debe a distensión capsular con acumulación de líquido y células inflamatorias en el espacio intersticial, que son removidos por la actividad articular que mejora el drenaje linfático durante el ejercicio del día. Esta rigidez, que se ve en más del 50 % de los pacientes, se presenta juntamente con dolor, al iniciar el movimiento después del reposo; dicha rigidez se prolonga durante más de ½ hora, lo cual contribuye a hacer el diagnóstico de AR.

A pesar de que la artritis reumatoide afecta principalmente a las articulaciones, se sabe que causa trastornos que afectan a otros órganos del cuerpo. Las manifestaciones extra-articulares, con la excepción de la anemia, que es muy frecuente, son clínicamente evidentes en aproximadamente 15-25% de los pacientes con artritis reumatoide. Puede resultar difícil determinar si las manifestaciones de la enfermedad son causadas directamente por el propio proceso reumatoide, o por los efectos secundarios de los medicamentos comúnmente utilizados para tratarla, por ejemplo, la fibrosis pulmonar por la administración de metotrexato o la osteoporosis por los corticosteroides (14).

4.1.7 Articulaciones.

La artritis de las articulaciones, conocida como sinovitis, es una inflamación de la membrana sinovial que reviste las articulaciones y vainas tendinosas. Como consecuencia, las articulaciones aumentan de volumen, se vuelven dolorosas y cálidas con una característica rigidez que limita su movimiento, en especial al despertar por la mañana o después de la inactividad prolongada. Esta gran rigidez

matutina es a menudo una característica resultante de la enfermedad inflamatoria que puede durar hasta más de una hora. Con el tiempo, la artritis reumatoide casi siempre afecta múltiples articulaciones, es decir, se trata de una poliartritis. Lo más frecuente es que se vean afectadas las pequeñas articulaciones de las manos, los pies y la columna cervical, sin embargo, las grandes articulaciones como el hombro y la rodilla no están exentas de verse afectadas, dependiendo de cada individuo. La sinovitis puede dar lugar a la inmovilización de los tejidos con pérdida del movimiento y la consecuente erosión de la superficie articular, causando deformidad y pérdida de la función de la articulación afectada.

Los movimientos suaves pueden aliviar los síntomas de rigidez en las primeras etapas de la enfermedad. Estas señales sirven para distinguir la inflamación reumatoide de problemas no inflamatorios de las articulaciones, a menudo referidos como la artrosis o artritis por desgaste y desgarro. En la artritis de causas no inflamatorias, los signos de la inflamación y la rigidez matinal suelen estar ausentes, además que los movimientos tienden a agravar el dolor debido al desgaste articular. En la artritis reumatoide, las articulaciones se ven con frecuencia afectadas en forma simétrica, es decir, afectando las mismas articulaciones del lado contralateral del cuerpo, aunque no es una eventualidad específica de la enfermedad, pues la presentación inicial puede ser asimétrica (11).

4.1.8 PRUEBAS DE LABORATORIO.

Dentro de las investigaciones de laboratorio de uso habitual en las enfermedades reumáticas podemos considerar las siguientes:

Pruebas específicas

- El factor reumatoide (IgG).
- Anticuerpos anti-péptido cíclico citrulinado (anti-CCP).

Pruebas no específicas

- Velocidad de sedimentación globular (VSG).
- Proteína C reactiva.
- Hemograma.
- La banda de coagulación de Weltmann (coagulación por el calor de las proteínas plasmáticas en presencia de calcio).
- La electroforesis de las proteínas.
- La inmunoelectroforesis.
- La ultracentrifugación.
- Las mucoproteínas.
- Los anticuerpos nucleares.

4.1.8.1 Anticuerpos anti-péptido cíclico citrulinado (anti-CCP).

4.1.8.1.1 Definición.

Esta prueba que sirve para confirmar el diagnóstico de artritis reumatoide, el anticuerpo anti-péptido cíclico citrulinado (Anti-CCP) frecuentemente se analiza en combinación con el factor reumatoide mediante una muestra de sangre.

La citrulina es un aminoácido ubicuo no tradicional que no se incorpora a las proteínas durante la traducción.

La citrulinación constituye un cambio postraduccional producido por la peptidilargininadeaminasa (PAD) sobre residuos de arginina, la cual hidroliza el grupo NH2 de la arginina a un grupo neutral de oxígeno que resulta en la formación de un ácido amino atípico llamado citrulina. El grupo neutral de oxígeno de los residuos de citrulina es la parte que es reconocida por autoanticuerpos. Las investigaciones han demostrado que los anti-filagrina (AFA) no son blancos de la filagrina o profilagrina en pacientes con artritis reumatoide, sino que están dirigidos

hacia otras proteínas de citrulina. Los anticuerpos antiproteínas citrulinadas fueron inicialmente descritos como antifactorperinuclear (APF) y posteriormente como anticuerpos antiqueratina (AKA) y anti-filagrina (AFA), hasta la identificación del antígeno común, la citrulina. Las proteínas que se han identificado como blancos citrulinados para los anticuerpos son diversas, entre las cuales la principal es la filagrina, incluyéndose también la vimentina y fibrina. Los depósitos de fibrina son una característica del tejido sinovial reumatoide, y autoanticuerpos a fibrina humana citrulinada son secretados localmente a nivel del tejido sinovial del intersticio.

La citrulinación no es un evento específico de la membrana sinovial, sino que se puede ver en diversos tejidos asociada a inflamación.

En cambio, es específica la respuesta humoral a la citrulinación, con producción de autoanticuerpos sólo en AR. Estos anticuerpos serían producidos localmente por células plasmáticas contra proteínas citrulinadas de la sinovial inflamada.

Pruebas originales para la detección de autoanticuerpos a proteínas citrulinadas detectaron APF o AKA en suero de los pacientes mediante el uso de antígenos de filagrina e inmunofluorescencia indirecta. Las pruebas no se utilizan ampliamente, probablemente debido a dificultades técnicas asociadas con los ensayos. El desarrollo de péptidos citrulinados allanó el camino para una nueva prueba de laboratorio para la artritis reumatoide, la primera generación de anti-CCP (CCP1) (16).

La prueba de anti-CCP utiliza péptidos sintéticos que contienen citrulina y detecta la presencia de autoanticuerpos para péptidos citrulinados. Los péptidos fueron hechos cíclicos debido a que la estructura tridimensional optimiza la sensibilidad de las pruebas y permite a los grupos de los péptidos ser reconocidos por una población heterogénea de autoanticuerpos de la artritis reumatoide. La prueba de CCP1 tuvo una excelente especificidad (97%) y una decente sensibilidad (68%).

Una segunda generación de anti-CCP (CCP2) fue desarrollada con otros péptidos citrulinados y dio una mejor sensibilidad (75-80%) que la prueba de CCP1. Recientemente, una tercera generación de anti-CCP (CCP3) fue desarrollada y demostró una sensibilidad alrededor de 5% más que la prueba de CCP2 (17).

Se le ha atribuido a la citrulinación un papel patogénico, vinculándola al epítope compartido del HLA. En la presentación antigénica a las células T la presencia de alelos HLA-DRB1 confiere especial susceptibilidad para el desarrollo de la AR. Si bien no se ha identificado con precisión un antígeno gatillante de la respuesta inmune correspondiente, el grupo de aminoácidos que conforman el epítope compartido forman un bolsillo, P4, en el cual el encaje de la citrulina sería específico y mantenido por la neutralidad de la molécula, en comparación con la carga positiva de la arginina (18).

La técnica que se aplica para el desarrollo de esta prueba es ELISA (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas); se basa en la unión antígeno-anticuerpo.

Es de fácil procesamiento y generalmente automatizado lo que permite realizar un mayor número de exámenes (19).

4.1.8.1.2 Interpretación de resultados.

Valores positivos: >25U/ml

Valores negativos: <25 U/ml

4.1.8.1.3 Diferencia entre el FR y Anti-CCP

El factor reumatoide se ha convertido en la principal prueba de laboratorio usada en el diagnóstico de artritis reumatoide, se encuentra en el suero hasta en un 85% de los pacientes con AR, sin embargo, se encuentra también en muchas otras

enfermedades, como síndrome de Sjögrens, lupus eritematoso sistémico y enfermedad del tejido conectivo mixto. Además, se encuentra en el 5% de suero de pacientes aparentemente normales. La presencia del factor reumatoide en tantas otras condiciones disminuye la especificidad diagnóstica de las pruebas del factor reumatoide, lo que resulta en la búsqueda de una prueba más específica para el diagnóstico de esta patología. En cambio, la prueba de anti-CCP se encontró que tiene una sensibilidad comparable a la prueba del FR; sin embargo, la especificidad ha demostrado ser superior a 95%, convirtiéndose en una prueba predictiva en el diagnóstico temprano de AR. Pero la misma no la hace parte del estudio rutinario por el costo de la misma (20).

La técnica más usada en clínica para la determinación de FR es la Aglutinación del Látex. En ella, se recubren partículas de látex con anticuerpos IgG humanos. En un paso posterior se agrega la muestra del paciente en estudio. Si este suero tiene anticuerpos que reconocen los fragmentos Fc, habrá aglutinación de las partículas de látex, lo que es visible al ojo humano.

La técnica de látex detecta fundamentalmente FR de clase IgM, ya que es una inmunoglobulina pentavalente y eficiente como aglutinante. Se informa en títulos o en UI/ml. Son significativos títulos mayores de 1:80 o mayores de 50 UI/ml.

Para desarrollar la técnica de anticuerpos anti-CCP se utiliza el método de ELISA, es una técnica simple que se basa en la unión antígeno-anticuerpo. Para la búsqueda de autoanticuerpos se incuba el suero del paciente en un pocillo en cuyas paredes se encuentra adherido el antígeno específico, luego se lava quedando en el pocillo sólo los anticuerpos que se han unido al antígeno. Se usa luego un segundo anticuerpo dirigido contra la porción Fc de la Ig (anti IgG, M, A o polivalentes) que se uniría al primer anticuerpo (el del paciente).

Finalmente, mediante un sustrato colorimétrico (se activa mediante enzimas que se encuentran en el segundo anticuerpo) se determina la cantidad de anticuerpo

presente (a mayor intensidad del color, mayor concentración sérica del autoanticuerpo).

Las ventajas de la determinación mediante ELISA anti-PCC respecto a las otras técnicas son: mayor sensibilidad (determinación de un mayor número de casos), por tratarse de una técnica cuantitativa, de fácil realización y gran reproducibilidad, lo que permite su estandarización y la posibilidad de ser utilizada por la mayoría de los laboratorios de inmunología y, por tanto, permitir su aplicación en la clínica diaria (21).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

La investigación a realizarse es de tipo descriptivo y de corte transversal.

ÁREA DE ESTUDIO

Se realizó el estudio en el Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora (HIA) de la ciudad de Loja en 80 personas que presenten un antecedente hereditario o síntomas de artritis reumatoidea.

UNIVERSO

Lo conforman las 80 personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora para un posible diagnóstico de la enfermedad.

MUESTRA

La constituyeron las 80 personas menores de 40 años con antecedentes hereditarios y síntomas de Artritis Reumatoidea, y que aceptaron formar parte del estudio.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Descendientes de personas con artritis reumatoidea que firmaron el consentimiento informado.
- Personas menores de 40 años que tengan familiares con Artritis Reumatoidea.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Las personas que no asistieron a la toma de muestra.
- Las personas que tenían diagnosticada la enfermedad.
- Las personas que tenían más de 40 años.

TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS.

Fase Pre-Analítica.

1. Oficio dirigido al Coordinador de la Carrera de Laboratorio Clínico de la UNL para solicitar se designe un asesor de la Carrera que emita el informe de estructura y coherencia correspondiente **(ANEXO No. 1).**
2. Oficio dirigido al Responsable de las prácticas de diagnóstico integral veterinario del Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la UNL para solicitar autorización para realizar los exámenes en su Laboratorio de Ensayos Inmunológicos **(ANEXO No. 2).**

- Se elaboró un consentimiento informado el mismo que fue entregado a las personas participantes de la investigación, el cual cuando fue firmado sirvió de respaldo para realizar las pruebas pertinentes **(ANEXO No. 3).**
- Se elaboró un registro de datos para la recolección de información del paciente: edad, género y el Grado de Consanguinidad con el fin de tener un respaldo de la información obtenida **(Anexo No. 4).**
- Se realizó un protocolo para realizar la flebotomía en el paciente. Aplicando las normas de Bioseguridad **(ANEXO No. 5).**

Fase Analítica

- Determinación de Anticuerpos ANTI-CCP mediante la técnica de Elisa **(ANEXO No. 6).**

Fase Post-Analítica.

- Validación del informe analítico.
- Finalmente se elaborará un formato de entrega de resultados, en el cual consta los valores de referencia **(ANEXO No. 7).**
- Entrega de resultados.

PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS

La tabulación de los resultados se realizará a través del programa informático Microsoft Excel mediante la elaboración de tablas de frecuencia simple que fueron representadas en gráficas porcentuales en las que se hace constar el nombre del autor, fuente e interpretación de datos.

6. RESULTADOS

TABLA N° 1

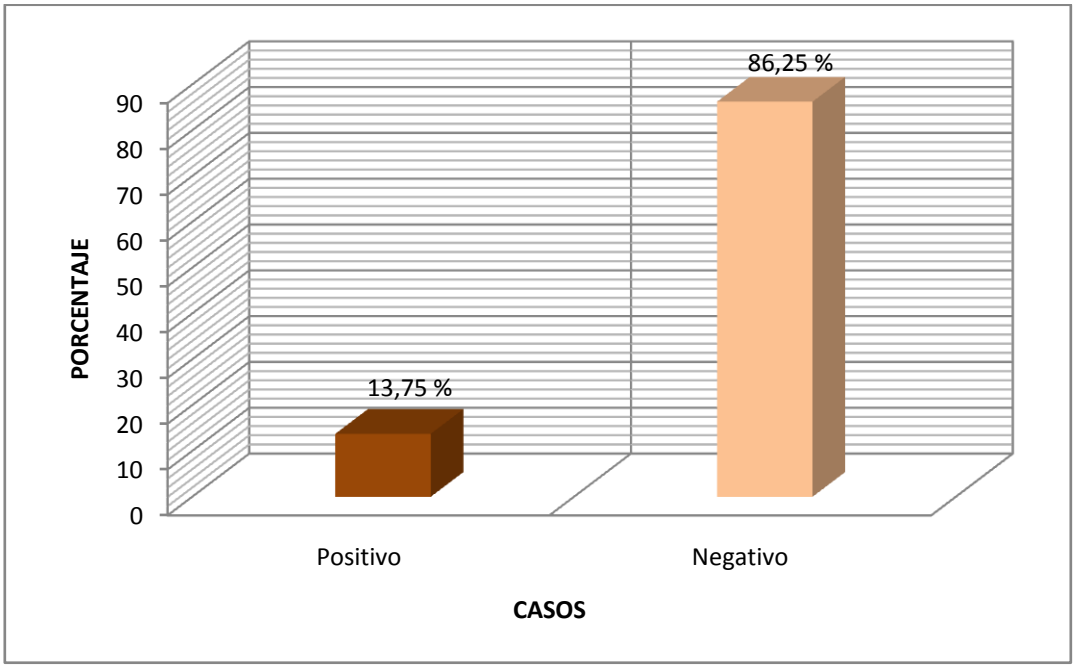
Casos de ANTI - CCP de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.

Casos	Frecuencia	Porcentaje %
Positivo	11	13,75
Negativo	69	86,25
Total	**80**	**100,00**

Fuente: Datos obtenidos por el Tesista
Elaborado: Jorge H. Castillo A.

GRÁFICO N° 1

Casos de ANTI - CCP de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.



Interpretación de Resultados:

De las 80 personas que constituyen el 100% de la población estudiada, 11 casos que corresponden al 13,75% presentaron ANTI-CCP positivo en suero sanguíneo.

TABLA N° 2

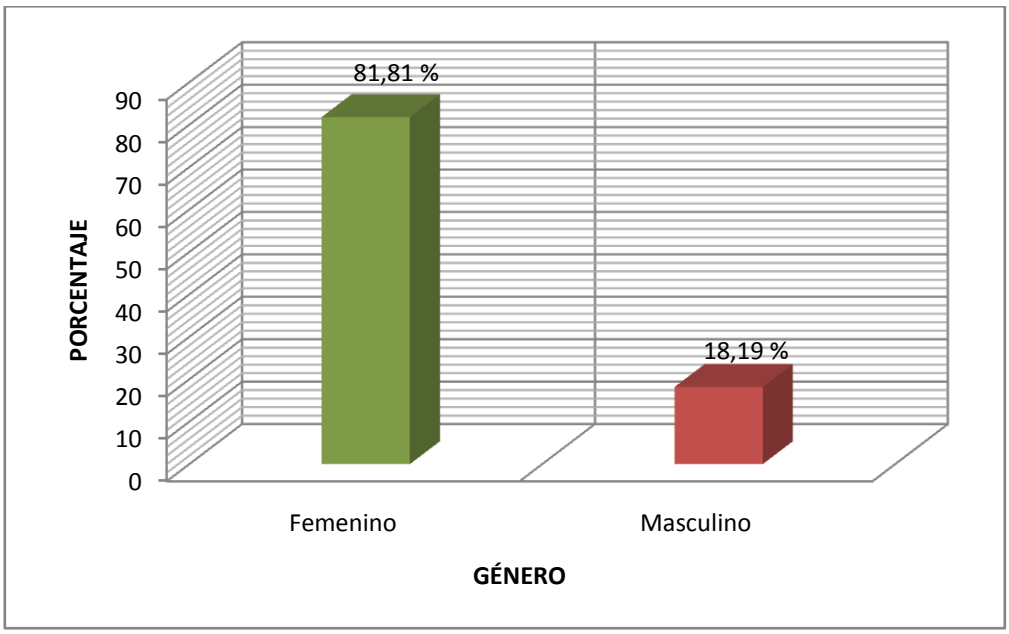
Distribución por género de los casos positivos de ANTI - CCP de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.

Género	Frecuencia	Porcentaje %
Femenino	9	81,81
Masculino	2	18,19
Total	**11**	**100,00**

Fuente: Datos obtenidos por el Tesista
Elaborado: Jorge H. Castillo A.

GRÁFICO N° 2

Distribución por género de los casos de ANTI - CCP de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.



Interpretación de Resultados:

De los 11 casos positivos, el género masculino representa un 18,19%, mientras que el 81,81% corresponde al género femenino.

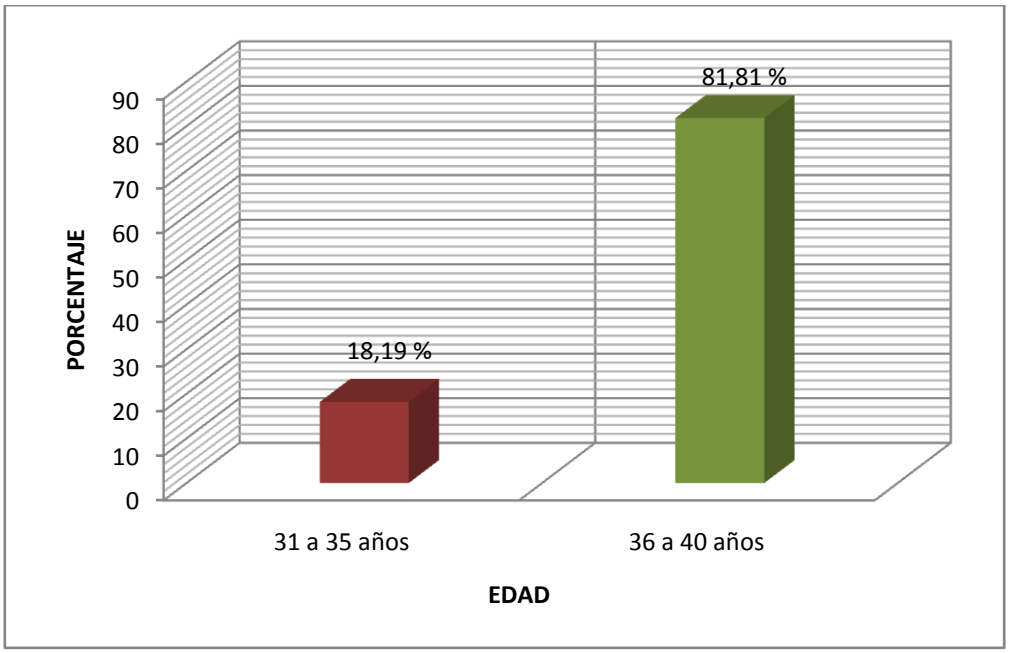
TABLA N° 3

Distribución de los casos positivos por grupo de edad de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.

Edad	Frecuencia	Porcentaje %
31 a 35 años	2	18,19
36 a 40 años	9	81,81
Total	**11**	**100,00**
Fuente: Datos obtenidos por el Tesista **Elaborado:** Jorge H. Castillo A.		

GRÁFICO N° 3

Distribución de los casos positivos por grupo de edad de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.



Interpretación de Resultados:

Del 100% de la población estudiada el 13,75% de los casos positivos se encuentra un 18,19% distribuido en el grupo de edad de 31 a 35 años, mientras que el 81,81% corresponde al grupo de edad de 36 a 40 años.

TABLA N° 4

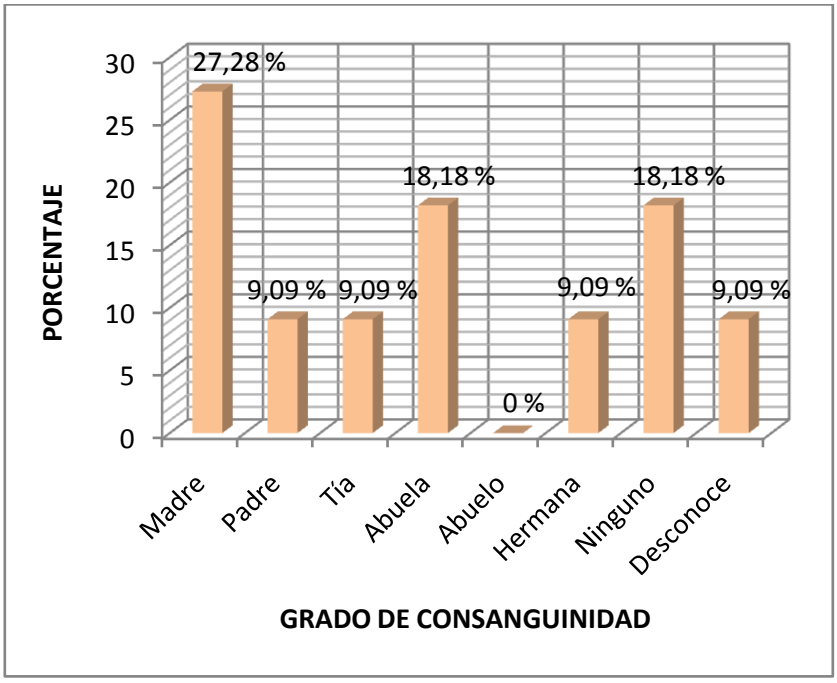
Grado de Consanguinidad de los casos de ANTI - CCP de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.

Grado de Consanguinidad	Positivo	
	F	%
Madre	3	27,28
Padre	1	9,09
Tía	1	9,09
Abuela	2	18,18
Abuelo	0	0
Hermana	1	9,09
Ninguno	2	18,18
Desconoce	1	9,09
Total	**11**	**100,00**

Fuente: Datos obtenidos por el Tesista
Elaborado: Jorge H. Castillo A.

GRÁFICO N° 4

Grado de Consanguinidad de los casos de ANTI - CCP de las personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora.



Interpretación de Resultados:

Del 100% de la población estudiada el 13,75% de los casos positivos se observó que el mayor porcentaje distribuido dentro del grado de consanguinidad es el de la madre con 27,28%, el 9,09% el padre, el 9,09% la tía, el 18,18% la abuela, el 9,09% la hermana, el 18,18% Ninguno; es decir no tiene familiar que haya presentado la enfermedad, el 9,09% desconoce; es decir no sabe si tuvo familiar con la enfermedad.

7. DISCUSIÓN

La AR es una enfermedad que puede padecer cualquier persona a lo largo de su vida, sin embargo el género femenino presenta una mayor frecuencia que el género masculino existiendo una relación de 4 a 6 mujeres por cada hombre. Suele iniciar en personas de entre 25 a 35 años de edad y presentan un cierto factor genético, por lo que hijos de pacientes con esta enfermedad, están más propensos a padecerla que hijos de personas aparentemente sanas.

En la actualidad existe una prueba tan precisa que incluso se la considera predictiva, ya que puede dar positivo entre 5 a 10 años antes del debut clínico de la enfermedad y se la conoce como Anticuerpos Anti-CCP, la cual favorece tanto al paciente como al médico, ya que gracias a ella se puede amortiguar la sintomatología incapacitante que produce esta patología. Los anticuerpos anti-CCP tienen una alta especificidad (95-98%) y sensibilidad (70%)**.** La importancia de la especificidad de los anticuerpos anti-CCP radica en la diferenciación de la AR con diversas enfermedades que pueden presentar unas manifestaciones clínicas semejantes en sus inicios (2).

Por tal motivo se ha creído conveniente realizar la presente investigación en una muestra de 80 personas menores de 40 años que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora como ayuda para el diagnóstico temprano de artritis reumatoidea**.** En síntesis, de las 80 personas que son el 100% que se realizaron este examen el 13,75% presenta la enfermedad en la cual predomina el género femenino, en una edad de ±38 años y de los cuales un 27,28% presentan la patología por herencia de parte materna. La AR es progresiva y no tiene cura hasta el momento, pero con esta técnica (anti-CCP) lo que se quiere objetivar es el uso clínico y de rutina de esta prueba, prolongando así el estilo de vida de las personas.

Varios estudios realizados de diferenciación entre dos técnicas (FR y Anti-CCP), reflejan que resultados positivos de anti-CCP en aquellas personas aparentemente sanas representan del 1-3%, sobre todo los que tienen una edad <40 años, por este motivo algunos autores recalcan que la utilidad de esta prueba es superior a la del FR. El hecho de que alrededor del 40% de los pacientes con AR y FR negativo tengan anti-CCP positivos aumenta su valor diagnóstico (22).

En un estudio realizado por González Arboleda y otros (2013) denominada UTILIDAD DIAGNÓSTICA DEL ANTICUERPO ANTIPÉPTIDO CÍCLICO CITRULINADO COMO PRUEBA DIAGNÓSTICA EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE; obtuvieron los siguientes resultados: la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del anticuerpo contra el péptido cíclico citrulinado fueron 81%, 92%, 90% y 82%, respectivamente. Para el factor reumatoide los resultados fueron similares, excepto en la especificidad (90%). Con cualquiera de las dos pruebas positivas la sensibilidad alcanza 89% y la especificidad 86%. La positividad simultánea de ambas pruebas disminuye la sensibilidad a 67% y la especificidad aumenta 100%. Por la sensibilidad y especificidad del anticuerpo contra el péptido cíclico citrulinado es considerado como una prueba útil para el diagnóstico temprano (23).

Un estudio que fue realizado por Zúñiga (2008) denominado DETERMINACION DEL PEPTIDO CICLICO CITRULINADO COMO MARCADOR DIAGNOSTICO EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE nos muestra que de los 30 pacientes con diagnóstico de AR, presentan un rango de edad de 17 a 65 años, con un promedio de 49 años de edad. En cuanto a género, 27 (90%) fueron mujeres y 3 (10%) fueron hombres (24).

En otro estudio realizado por Pacheco y otros (2011) en pacientes del Hospital Vicente Corral Moscoso, atendidos por el servicio de Reumatología, denominado ANTICUERPOS ANTIPÉPTIDO CITRULINADO EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE se reflejan resultados de que en cuanto al género mujer – hombre

(28/2) fue del 93.3% y 6.67%, respectivamente. Se estableció predominio de la enfermedad entre la cuarta y quinta década de la vida, con tendencia al incremento en la población comprendida entre los 45 y 60 años (25).

Y, en una GUÍA CLÍNICA DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE que se realizó en Ecuador en centros hospitalarios de Quito y Guayaquil, creada por la SOCIEDAD ECUATORIANA DE REUMATOLOGÍA en el 2010, han determinado que la AR afecta más a las mujeres 6.4 por cada 1 hombre, con una edad promedio de 53.6 años y una edad mínima temprana de 23 años. El promedio de tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico es de 2 años, además de este grupo de pacientes el 94.2% no tiene cobertura médica, lo cual es el motivo de lo que muchas personas no se realizan esta prueba tan específica y valiosa que brinda el pronto diagnóstico de AR (8).

Estos estudios se correlacionan con la presente investigación, la cual se realizó a 80 personas que acudieron al servicio de Reumatología en consulta externa del Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja, se encontró un 13,75% que equivale a 11 casos positivos de AR; de este un 81,81% fueron del género femenino y el 18,19% del género masculino. Los cuales tienen una edad comprendida de ±38 años y no presentan sintomatología. Por ende, se puede verificar y asegurar que la información universal previamente establecida hace referencia a una marcada tendencia de la enfermedad en el género femenino, y que puede detectarse en una edad menor a 40 años.

En un estudio ejecutado por PROAR en 34 servicios de reumatología españoles en el año 2009, denominado ¿CÓMO SON LOS PACIENTES CON AR DE RECIENTE COMIENZO?, realizado a 171 pacientes (150 pacientes en el grupo AR, 10 en el grupo sin AR y 11 en el grupo AR-overlap), obtuvieron los siguientes resultados en cuanto a sus antecedentes familiares: de las personas que presentaban AR 21 (14%); sin AR 1 (10%), y AR-overlap2 (18%) (26). En cambio, este estudio muestra que de los casos positivos (13,75%) el grado de

consanguinidad se observó que el mayor porcentaje lo tiene por herencia de la madre con 27,28%, el 9,09% el padre, el 9,09% la tía, el 18,18% la abuela, el 9,09% la hermana, el 18,18% no tiene familiar que haya presentado la enfermedad, y el 9,09% desconoce; es decir no sabe si tuvo familiar con la enfermedad. Relacionándolos, aunque el estudio de PROAR no desglosa el parentesco, se puede observar que si existe una tendencia de heredar la patología.

El grado de consanguinidad es importante mencionarlo ya que es un factor en cierto punto alarmante porque no se conoce con exactitud en cual descendiente aparecerá la AR. La existencia de agregación familiar indica su carácter hereditario. Sin embargo, la herencia de la AR es poligénica ya que no sigue un patrón mendeliano. La importancia de encontrar factores genéticos asociados con la artritis reumatoide radica en la contribución a la comprensión de los mecanismos patogénicos de la enfermedad, su posible aplicación clínica como marcadores de riesgo, diagnóstico, pronóstico, e incluso, blanco terapéutico (27).

8. CONCLUSIONES

Luego de analizar a 80 personas que acuden al Área de Reumatología del Hospital Regional Isidro Ayora de la Ciudad de Loja y tomando en consideración los objetivos planteados, he llegado a las siguientes conclusiones.

- Del 100 % de la población estudiada el 13,75% resultó ANTI-CCP positivo en suero sanguíneo sin presentar sintomatología de Artritis Reumatoide, de estos casos positivos el 18,19% se encuentra distribuido en el grupo de edad de 31 a 35 años, mientras que el 81,81% corresponde al grupo de edad de 36 a 40 años.

- Al comparar los resultados positivos obtenidos que corresponden al 13,75% en relación al género en personas menores de 40 años, se presentó una mayor prevalencia en el género femenino con el 16,67% y con el 7,70% en el género masculino. Es decir el género femenino es el más afectado.

- En cuanto al Grado de Consanguinidad encontrado en esta población se lo relacionó con los casos positivos que corresponde al 13,75% se observó que el mayor porcentaje es el de la madre con un 27,28%, el padre con el 9,09%, la tía con el 9,09%, la abuela con el 18,18%, la hermana con el 9,09%, ninguno con el 18,18%; es decir no tiene familiar que haya presentado la enfermedad, y desconoce con el 9,09%; es decir no sabe si tuvo familiar con la enfermedad.

9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la realización de la prueba de ANTI-CCP en las personas que posean cierta predisposición de padecer AR, es decir que tengan familiares con esta enfermedad, y a las que presenten sintomatología de dicha enfermedad.

- Promover la información necesaria y utilidad de esta prueba, ya que es más específica que otras pruebas realizadas de forma rutinaria, esto es debido al costo y desconocimiento de la misma.

- A las personas con ANTI-CCP positivo en este estudio, se les recomienda que asistan al reumatólogo y se realicen las pruebas complementarias para confirmar el diagnóstico de la patología y poder aplicar un tratamiento precoz.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. García, M.; Quesada, M. Artrtitis Reumatoide Fisiopatología y Tratamiento [Internet]. Centro Nacional de medicamentos. Costa Rica. 2004. Consultado: 1 de noviembre de 2013. Disponible en: http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed4.pdf
2. Valle, D. Anticuerpos Anti-ccp y Artritis Reumatoide. [Internet]. Dejatver. México. 2013. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://dejatver.com/anticuerpos-anti-ccp-y-artritis-reumatoide/
3. Artritis Reumatoide. [Internet]. Chile. Consultado: 1 de noviembre de 2013. Disponible en: http://escuela.med.puc.cl/publ/apuntesreumatologia/Pdf/ArtritisReumatoide.pdf
4. Villegas, G. Anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado en el Diagnóstico de Artritis Reumatoide. Costa Rica. Consultado el 14 de marzo de 2014. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S101785462003000100002&script=sci_arttext
5. Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. Artritis Reumatoide. [Internet]. Consultado: 2 de noviembre de 2013. Disponible en: www.cdc.gov/arthritis/espanol/rheumatoid.htm
6. Centro para el Control y Prevención de Enfermedades. Reporte de Morbilidad y Mortalidad. [Internet]. Consultado: 2 de noviembre de 2013. Disponible en: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6006a2.htm?s_cid=
7. Ruderman, E.; Tambar, S. Artritis Reumatoidea. [Internet]. Colegio Estadounidense de Reumatología. Atlanta. 2012. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: www.rheumatology.org/practice/clinical/patients/diseases.../ra-esp.pdf---- http://www.rheumatology.org/Practice/Clinical/Patients/Diseases_And_Conditions/Rheumatoid_Arthritis/
8. Vargas, S.; entre otros. Guía de Diagnóstico y Tratamiento de Artritis Reumatoide. [Internet]. Sociedad Ecuatoriana de Reumatología. Ecuador.

2010. Consultado: 2 de noviembre de 2013. Disponible en: https://es.scribd.com/doc/131399175/Guias-de-ReumatologiaECUADOR

9. Delgado, A.; Martín, J.; Granados, J.; Anaya, J. Epidemiología Genética de la Artritis Reumatoide: ¿Qué esperar de América Latina?. Biomédica. Medellín, Colombia. 2011. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://scholar.google.com.ec/scholar_url?hl=es&q=http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/download/326/484&sa=X&scisig=AAGBfm0ZER6Wi3ARdW4ZrZrSNvMh1OfNEg&oi=scholarr&ei=dNL8UrPnEI3ykQfAv4GwBw&sqi=2&ved=0CCYQgAMoADAA
10. López, M. Anticuerpos contra los Péptidos Cíclicos Citrulinados: marcadores específicos de artritis reumatoide. [Internet]. SEQC. 2005. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:zts0Rh-aeBAJ:www.seqc.es/dl.asp%3F184.149.202.241.0.20.10.3.101.159.3.113.230.197.71.4.207.159.69.232.249.7.73.214.142.75.182.32.48.9.6.156.10.207.207.95.26.217.62.77.236.87.234.134.212.190.32+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=ec
11. Álvarez A. Anatomía, Fisiología e Higiene 1. Segunda edición. Editorial ediciones científicas. Ecuador. 1999.
12. Lombas M., Suárez M., Castell C., Moreno A. y Giral R. Diagnóstico diferencial de las enfermedades reumáticas. Editorial ESPAKS. España.
13. Ruddy S., Harris E. y Sledge C. Reumatología. Sexta edición. Editorial Marbán. Madrid, España. 2003.
14. Mason M. y Currey H.L.F. Reumatología. Editorial Labor. Barcelona. 1974.
15. Pérez, A. Artritis Reumatoide. [Internet]. Sembrando medicina humanista. 2013. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://skorpiomenlamedicina.blogspot.com/2013/08/artritis-reumatoide-es-el-nombre.html
16. Mezzano V. y Iacobelli S. Anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado Cíclico. [Internet]. Chile. 2007. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://www.sochire.cl/bases/r-312-1-1343703773.pdf

17. Ruiz G. Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio. Primera edición. Editorial Panamericana. México. 2004.
18. Sanford T. y Davidsohn. El laboratorio en el diagnóstico clínico. 20° edición. Editorial Marbán. Madrid, España. 2007.
19. Prieto J. La clínica y el Laboratorio. 12° edición. Editorial Elsevier (Masson). Barcelona, España. 2006.
20. Ashley, N. Factor Reumatoide y Autoanticuerpos Anti-ccp en Artritis Reumatoide. [Internet]. 2008. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://www.llave.connmed.com.ar/portalnoticias_vernoticia.php?codigonoticia=16868
21. Mezzano, V. Uso del Laboratorio Reumatológico. [Internet]. Consultado: 12 de febrero de 2014. Disponible en: http://escuela.med.puc.cl/publ/apuntesreumatologia/pdf/usolaboratorio.pdf
22. Ser. Guía de Práctica Clínica para el Manejo de la Artritis Reumatoide. España. 2007. [Internet]. Consultado: 15 de marzo de 2014. Disponible en: http://www.ser.es/practicaClinica/GUIPCAR_2007/Diagnostico/Menu3_Diagnostico_AR_III3.php
23. González M.; Rueda J.; González H. y Salcedo M. Utilidad Diagnóstica del Anticuerpo Antipéptido Cíclico Citrulinado como prueba diagnóstica en pacientes con Artritis Reumatoide. Editorial Elseiver. Colombia. 2013. Consultado: 02 de julio de 2014. Disponible en: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0121812313700082
24. Zúñiga, A. Determinación del Péptido Cíclico Citrulinado como marcador diagnóstico en pacientes con Artritis Reumatoide. 2008. Guayaquil, Ecuador. Consultado: 01 de julio de 2014. Disponible en: http://ibdigital.uib.es/greenstone/collect/fundacioCatedraIberoamericana/archives/eduardo_.dir/eduardo_zuniga.pdf.
25. Pacheco E.; Jara J.; Guevara S. y Pacheco M. Anticuerpos Antipéptido Citrulinado en pacientes con Artritis Reumatoide. Cuenca, Ecuador. 2008. Consultado: 02 de julio de 2014. Disponible en: http://www.reumatologiaecuador.com/reumatologia

aldia/rev_vol9_2011/trabajos-originales/anticuerpos-antipeptido-citrulinado.html

26. Villaverde, V.; Balsa A.; Carmona L.; Sanmartí R.; Maese J.; Pascual D. y Ivorra J. ¿Cómo son los pacientes con Artritis Reumatoide de reciente comienzo en España? Descripción de la cohorte Proar. España. 2009. Consultado: 01 de julio de 2014. Disponible en: http://www.reumatologiaclinica.org/es/como-son-los-pacientes-con/articulo/13136362/
27. Delgado, A.; Martín, J.; Granados, J. y Anaya, J. M. Epidemiología Genética de la Artritis Reumatoide: ¿Qué esperar de América Latina?. Colombia. 2007. Consultado: 24 de mayo de 2014. Disponible en: http://digital.csic.es/handle/10261/2215

11. ANEXOS

ÍNDICE

Anexo N° 1: Oficio dirigido al Coordinador de la Carrera de Laboratorio Clínico de la UNL.

Anexo N° 2: Oficio dirigido al Responsable de las prácticas de diagnóstico integral Veterinario.

Anexo N° 3: Consentimiento informado.

Anexo N° 4: Registro de datos.

Anexo N° 5: Procedimiento para la flebotomía.

Anexo N° 6: Técnica para la determinación de ANTI-CCP.

Anexo N° 7: Formato de entrega de resultados.

Anexo N° 8: Cronología fotográfica del trabajo de campo.

ANEXO No 1: OFICIO DIRIGIDO AL COORDINADOR DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNL.

Loja, 22 de Febrero del 2014

Sra. Alba Pesantez
COORDINADOR DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNL
En su despacho.-

De mi consideración:

Yo **JORGE HERNAN CASTILLO AMI** portador de la Cedula de Identidad Nro. 1104496706, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, me dirijo a Usted con el fin de denunciar mi proyecto de tesis cuyo tema es **"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA",** motivo por el cual solicito se designe un asesor de la carrera que emita el informe de estructura y coherencia correspondiente.

Esperando una respuesta favorable, de la misma manera le reitero un saludo y mis más sinceros agradecimientos.

Atentamente
Jorge Hernan Castillo Ami

ANEXO No 2: OFICIO DIRIGIDO AL RESPONSABLE DE LAS PRÁCTICAS DE DIAGNÓSTICO INTEGRAL VETERINARIO.

Loja, 09 de ABRIL del 2014

Señor:
DR. SEGUNDO GERMAN BARRAGAN
RESPONSABLE DE LAS PRÁCTICAS DE DIAGNÓSTICO INTEGRAL VETERINARIO.

De mi consideración:

Haciéndole llegar un cordial saludo, yo **JORGE HERNAN CASTILLO AMI**, con cedula de identidad **110449670-6** en calidad de estudiante del octavo módulo de la carrera de **Laboratorio Clínico,** solicito a usted muy comedidamente se me conceda la autorización respectiva para utilizar las instalaciones y el equipo de MICROELISA del Laboratorio Clínico de la Carrera de Veterinaria con el fin de llevar a cabo el análisis de las muestras para mi trabajo de campo de tema de tesis **"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA";** siendo pertinente mencionar que los materiales y reactivos de **IMTEC-CCP-Antibodies,** necesarios para el procesamiento de las muestras serán adquiridos por mi persona.

Por la favorable atención que se digne dar al presente le expreso mis sentimientos de gratitud, aprecio y consideración.

……

Jorge Hernan Castillo Ami

110449670-6

ANEXO No 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Estimado paciente, por medio de la presente con el fin de cumplir con los objetivos planteados en el presente trabajo investigativo, denominado **"DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-CCP EN PERSONAS MENORES DE 40 AÑOS COMO AYUDA PARA EL DIAGNÓSTICO TEMPRANO DE ARTRITIS REUMATOIDEA"**, previo a la obtención del Título de Licenciado en Laboratorio Clínico solicito de la manera más comedida se digne a otorgar la respectiva autorización, que representa su libre participación en dicho proyecto, mediante la recolección de una muestra de sangre venosa la cual será recolectada, procesada, analizada y cuyos resultados serán de beneficio para su salud.

Por su valiosa colaboración le antelamos nuestro más sincero agradecimiento.

Yo……
con C.I……...… otorgo la respectiva autorización, para participar en el proyecto investigativo planteado.

ANEXO No 4: REGISTRO DE DATOS.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

LABORATORIO CLÍNICO

Fecha: .....

Código	Nombres y Apellidos	EDAD	GÉNERO		GRADO DE CONSANGUINIDAD	OBSERVACIONES
			M	F		

ANEXO No 5: PROCEDIMIENTO PARA LA FLEBOTOMÍA.

1. Preparar la orden de ingreso.
2. identificar al paciente mediante la confirmación de su nombre y número de identificación.
3. Si corresponde verificar alguna restricción de la dieta.
4. Seguir las normas de bioseguridad, tanto para protección del paciente como para el laboratorista.
5. Reunir los elementos necesarios y colocarse los guantes.
6. Brindarle la suficiente confianza al paciente.
7. Posicionarlo cómodamente de preferencia en una silla especial para venopunción con descanso para los brazos y si está en cama, preferiblemente acostado.
8. Verificar la selección de tubos y rotularlos de acuerdo al número o código del paciente.
9. Seleccione un sitio adecuado para la venopunción (vena radial, cúbito-medial y basílica). la mejor manera es realizando una palpación de las mismas. para ello coloque el torniquete de 3 a 5 cm por arriba del sitio seleccionado, durante no más de un minuto. En ocasiones si no visualiza la vena, puede forzar la sangre dentro de la vena a través de un suave masaje de abajo hacia arriba, colocando compresas de agua caliente o pidiendo al paciente que cierre y abra su mano varias veces y que finalmente la mantenga cerrada con fuerza.
10. Seleccione el sitio de punción, se procede a desinfectar esta zona con torundas de algodón con alcohol, desde adentro hacia afuera.
11. Verificar si la jeringa no tiene aire y ver si está bien segura la aguja.
12. Realizar la fijación de la vena con el dedo pulgar 2.5 a 5 cm por debajo del sitio a puncionar.
13. Coloque la punta de la aguja en un ángulo de 45° sobre la superficie de la vena escogida y atraviese la piel con un movimiento firme y seguro.
14. Apretando firmemente la jeringuilla debe jalar el émbolo con movimiento continuo para extraer la sangre hasta el volumen requerido.

15. Afloje el torniquete para que la sangre fluya mejor.
16. Asegúrese que la mano del paciente esté abierta.
17. Colocar el algodón con suavidad sobre el sitio de punción sin presionar, y remueva la aguja del brazo con movimiento suave, aplicar presión adecuada y no excesiva para evitar la formación de hematoma.
18. Llenar los tubos en su orden para bioquímica sanguínea (tapa roja) y hematología (tapa lila).
19. Descartar la jeringuilla y aguja en un contenedor apropiado de material infeccioso.
20. Colocar una curita o venda en el sitio de punción del paciente.

TÉCNICA CON VACUTAINER:

1. Explicar al paciente el procedimiento que se le va a realizar.
2. Colocar al paciente en una posición adecuada.
3. Preparar todos los instrumentos que vamos a ocupar.
4. Rotular el material con la fecha e identificación respectiva.
5. Ajustar la aguja en la campana.
6. Fijar el torniquete al brazo del usuario con su previo consentimiento; palpar la zona donde se va a realizar la venopunción.
7. Desinfectar la zona con la torunda de adentro hacia afuera; fijar piel y realizar la venopunción, luego con el cuidado respectivo introducir el tubo y lo dirijo con la zona en la que pueda observar la extracción mientras tanto soltamos el torniquete.
8. Observa constantemente al paciente hasta terminar la extracción
9. Ya conseguida la muestra retiramos en primer lugar el tubo, luego la campana junto con la aguja pero percatándonos de colocar una torunda en el lugar de punción.
10. Colocamos la curita en el lugar de la punción y le agradecemos cordialmente al paciente.

ANEXO No 6: TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTI-CCP.

IMTEC-CCP-ANTIBODIES

CCP
ELISA para la determinación cuantitativa de anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados

Presentación del estuche

REF ITC60021 96 Determinaciones Estuche completo
IVD

Leer detenidamente las instrucciones antes de realizar la prueba.

Precauciones para el uso:

No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.

DIL **DB18,** BUF WASH 20x **WB04,** SUBS TMB **TMB CCP y** SOLN STOP **STOP ELISA pueden ser intercambiados entre diferentes lotes y estuches que tienen la misma designación del reactivo.**

Todos los demás reactivos son específicos del lote de estuche individual y no deben ser intercambiados con otros lotes y estuches

Almacenar los reactivos de 2...8°C.

Uso previsto

El IMTEC-CCP-Antibodies es un inmunoensayo enzimático (ELISA) indirecto para la medición cuantitativa de autoanticuerpos de clase IgG contra péptidos cíclicos citrulinados (CCP) en suero o plasma humano. El ensayo ha sido diseñado para el uso diagnóstico in-vitro solamente como ayuda en el diagnóstico de la artritis reumatoide.

La artritis reumatoide (AR) es una de las enfermedades autoinmunes sistémicas más comunes y afecta hasta el 1-2 % de la población mundial. Los criterios de clasificación para la AR incluyen el marcador serológico factor reumatoide (FR). El FR se ha mostrado ser asociado con un pronóstico desfavorable para destrucción de la articulación e incapacidad, especialmente cuando está presente en niveles altos.

Sin embargo, el FR es frecuentemente negativo o presente en niveles bajos en las fases tempranas de la enfermedad. Los anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP) se han revelado ocurrir en un número importante de sueros de pacientes con AR bien definidos y tienen una especifidad excelente hacia controles de enfermos. Los anticuerpos anti-CCP pueden detectarse años antes el comienzo de manifestaciones clínicas y pueden por eso utilizarse como marcador predictivo para el desarrollo de la AR.

El ELISA IMTEC-CCP-Antibodies contiene péptidos sintéticos ameliorados seleccionados por su rendimiento superior y sirve de marcador altamente específico y sensitivo como ayudo en el diagnóstico de la AR.

Método

La prueba se basa en la inmovilización de péptidos cíclicos citrulinados (CCP) a la superficie de una placa de microtitración y la unión subsiguiente de anticuerpos anti-CCP de suero o plasma humano. Para la detección de los anticuerpos, se utiliza un anticuerpo anti IgG humana conjugado con peroxidasa (HRP). Tras la adición de la solución de sustrato, aparece un color cuya intensidad es proporcional a la concentración de los anticuerpos anti-CCP. Después de la adición de la solución de parada, el color se transforma de azul a amarillo.

Contenido

MTP	**12 Tiras de micropocillos (8 pocillos cada una)** listas para usar, recubiertas de péptidos cíclicos citrulinados
CAL 1 – CAL 5	**5 x 1,5 ml Calibradores** IgG (tapa blanca), suero humano, azules, listos para usar 1: 25 U/ml 2: 50 U/ml 3: 200 U/ml 4: 800 U/ml 5: 3200 U/ml
CONTROL -	**1,5 ml Control negativo anti-CCP** (tapa verde) humano, listo para usar
CONTROL -	**1,5 ml Control positivo anti-CCP** (tapa roja) humano, listo para usar
CONTROL co	**1,5 ml Control de referencia anti-CCP** (tapa amarilla) humano, listo para usar
BUF WASH 20x WB04	**50 ml Buffer de lavado** (tapa negra) Concentrado (20x) para 1 l Buffer de fosfato pH 7,4 ± 0,2
DIL DB18	**100 ml Buffer de dilución** (tapa azul) listo para usar Buffer de fosfato pH 7,4 ± 0,2
CONJ a(hum IgG):HRP	**15 ml Solución de conjugado** (tapa blanca) anti IgG humana conjugada con peroxidasa, listo para usar
SUBS TMB TMB CCP	**15 ml Solución TMB** (tapa negra) listo para usar pH 3,7 ± 0,2 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina 1,2 mmol/l Peróxido de hidrógeno 3 mmol/l
SOLN STOP STOP ELISA	**15 ml Solución de parada** (tapa roja) Acido sulfúrico, listo para usar 0,5 mol/l
	1 Tira adhesiva

Notas de seguridad

No ingerir los reactivos. Evitar el contacto con los ojos, piel y membranas mucosas. Todas las muestras de pacientes y controles deberán ser manipulados como posibles agentes infecciosos. Los controles han sido encontrado negativos para HBsAg y anticuerpos contra VHC y VIH 1 + 2 en los donantes. Usar ropa protectora y guantes desechables según las buenas prácticas de laboratorio (GLP).

Todos los materiales contaminados con muestras o controles deben inactivarse por métodos aprobados (autoclavado o tratamiento químico) según las regulaciones aplicables.

SOLN STOP, SUBS TMB pueden irritar los ojos, piel y membranas mucosas. En caso de contacto, lavar intensamente con abundante agua y consultar un médico.

Estabilidad

Los reactivos son estables hasta las fechas de caducidad en las etiquetas individuales cuando se almacenan a 2...8°C.

Preparación de reactivos

¡El estuche y todos sus componentes deben alcanzar la temperatura ambiente (TA) antes de realizar el ensayo! Los frascos utilizados deben cerrarse con cuidado y almacenarse de 2...8 °C. Almacenar SUBS TMB protegido de la luz.

No utilizar recipientes de poliestireno en la manipulación de CONJ a(hum IgG):HRP.

Para evitar una contaminación microbiana y/o química potencial, nunca transferir los reactivos no utilizados en el frasco de orígen.

Solución de buffer de lavado WASH

Cualquier sal cristalizada dentro del frasco debe disolverse antes de realizar el ensayo. Diluir 1 parte de BUF WASH 20x con 19 partes de agua desionizada. WASH es estable para 6 semanas si se almacena de 2...8°C.

Muestras

Sueros de pacientes y plasma

Usar muestras recién tomadas o congelar las muestras a –20°C. Congelar y descongelar solamente una vez. No utilizar muestras séricas inactivadas por tratamiento de calor a 56°C.

Permitir que las muestras alcancen la temperatura ambiente (30 min.).

Diluir muestras 1:50 con DIL (agregar 10 µl de muestra a 490 µl de DIL).

Procedimiento

- Cuantitativo:

  Pipetear 100 µl de muestra diluida, CAL, CONTROL + y CONTROL - en MTP, para el blanco utilizar DIL en lugar de la dilución de muestra, cubrir MTP de tira adhesiva.

  Cualitativo:

  Pipetear 100 µl de muestra diluida, CONTROL co, CONTROL + y CONTROL - en MTP, para el blanco utilizar DIL en lugar de la dilución de muestra, cubrir MTP de tira adhesiva.
- Incubar para 1 hora a TA.
- Echar la solución de MTP. Lavar MTP 3 vezes usando 300 µl de WASH por pocillo.
- Echar WASH y remover el líquido remanente invirtiendo los micropocillos sobre papel o tela absorbante.
- Pipetear 100 µl de CONJ a(hum IgG):HRP y cubrir MTP de tira adhesiva.

- Incubar 30 min. a TA.
- Echar la solución de MTP. Lavar MTP 3 vezes usando 300 µl de WASH por pocillo.
- Echar buffer y remover el líquido remanente invirtiendo los micropocillos sobre papel o tela absorbante.
- Pipetear 100 µl de SUBS TMB e incubar 30 min.. A una temperatura ambiente superior a 25°C, el tiempo de incubación del sustrato podría acortarse. El tiempo de incubación mínimo debería ser de 25 min..
- Agregar 100 µl de SOLN STOP por pocillo.
- Leer la absorbancia a 450 nm dentro de los 10 min. siguientes a la adición de la solución de parada. Se recomienda proceder a una medición bicromática con una longitud de onda de referencia a 620 - 690 nm.

Automatización

El ELISA IMTEC-CCP-Antibodies puede efectuarse con analizadores ELISA automatizados apropiados. Las aplicaciones deben validarse antes del uso diagnóstico.

Validación del análisis

Los resultados son válidos si se cumplen los siguientes criterios para los resultados obtenidos:

Cuantitativo

- CONTROL + está dentro del rango indicado (ver etiqueta).
- CONTROL - está inferior al valor de punto de corte de la prueba.
- CAL 5 no queda por debajo de un valor de absorbancia de 0,9.
- Las absorbancias de CAL 1 - 5 continúan subiendo.

Cualitativo

- El cociente de absorbancia de CONTROL + / CONTROL ∞ está dentro del rango indicado (ver etiqueta).
- El cociente de absorbancia de CONTROL - / CONTROL ∞ es de < 1,0.

Para mejorar la exactitud de los resultados de la prueba, recomendamos analizar CAL 1 – CAL 5, CONTROL ∞, CONTROL +, CONTROL - y las muestras de pacientes en duplicado.

Interpretación de resultados

Cuantitativo

Graficar las absorbancias mesuradas contra las concentraciones/unidades de CAL 1-5 en papel milimetrado lineal. Interpolando los puntos mesurados graficados, se obtiene una curva de calibración por medio de la cual la concentración de los anticuerpos anti-CCP en la muestra del paciente puede ser determinada.

La curva de calibración no puede utilizarse para valores de absorbancia debajo de CAL 1 (25 U/ml). Los valores deben indicarse como < 25 U/ml.

Los resultados por encima de 25 U/ml (valor de punto de corte) se consideran positivos.

Cualitativo

Una interpretación cualitativa de los resultados es posible comparando las absorbancias de CONTROL ∞ y de las muestras:

- Absorbancias > 1,0 x CONTROL ∞ deben considerarse positivas.
- Absorbancias < 0,95 x CONTROL ∞ deben considerarse negativas.
- Absorbancias ≥ 0,95 x CONTROL ∞ y ≤ 1,0 x CONTROL ∞ deben considerarse equívocas (se recomienda repetir la prueba).

Limitaciones

Un resultado positivo debe utilizarse en asociación con la evaluación clínica y otros procedimientos diagnósticos. Los valores obtenidos con esta prueba son destinadas a ser únicamente una ayuda en el diagnóstico.

Niveles elevados de anticuerpos anti-CCP pueden ocurrir en individuos con ninguna evidencia de enfermedad clínica.

La concentración de anticuerpos anti-CCP no se correlaciona necesariamente con la actividad de la enfermedad.

Las características de la ejecución para este ensayo no han sido establecidas para muestras pediátricas.

Características de la ejecución

Las características de la ejecución de esta prueba pueden ser encontradas en el informe de verificación, accesible vía:

www.human.de/data/gb/vr/el-60021.pdf o

www.human-de.com/data/gb/vr/el-60021.pdf

Literatura

1. Coenen D. *et al.*, Clin Chem. **53**, 498-504 (2007)
2. Bizzaro N. *et al.*, Clin Chem. **53**, 1527-33 (2007)
3. Van Boekel *et al.*, Arthritis Res. **4**, 87-93 (2002)
4. Rantapää-Dahlqvist S. *et al.*, Arthritis Rheum. **48,** 2741-2749 (2003)
5. Kastborn A. *et al.*, Ann. Rheum. Dis. **63**, 1085-1089 (2004)
6. Nell V.P.K. *et al.*, Ann Rheum Dis. **64**, 1731–1736 (2005)

EL-60021 INF ITC60021 E 08-2008-2

CE

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany
Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail human@human.de

ANEXO No 7: FORMATO DE ENTREGA DE RESULTADOS.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

ÁREA DE LA SALUD HUMANA

LABORATORIO CLÍNICO

RESULTADO DEL ANÁLISIS DE ANTI-CCP

NOMBRE: .....

EDAD: .....

FECHA: .....

RESULTADOS:

PRUEBA	RESULTADOS	UNIDAD	VALORES DE REFERENCIA
ANTI-CCP		U/ml	<25 U/ml

ANEXO No 8: CRONOLOGÍA FOTOGRÁFICA DEL TRABAJO DE CAMPO

FASE PRE-ANALÍTICA

1.- Consentimiento Informado.

2.- Obtención y recolección de la muestra sanguínea.

3.- Obtención del suero sanguíneo.

FASE ANALÍTICA

4.- Realización de la técnica de IMTEC-CCP-Antibodies con ELISA.

Pipeteo de reactivos	**Pipeteo de los sueros**

Reacción del antígeno y anticuerpo	**Lavado de los micropocillos en el lavador automático de Elisa**

Resultado de la reacción

FASE POST-ANALÍTICA

5.- Entrega de resultados.

12. ÍNDICE

CERTIFICACIÓN ..... **II**
AUTORÍA ..... **III**
CARTA DE AUTORIZACIÓN ..... **IV**
DEDICATORIA ..... **V**
AGRADECIMIENTO ..... **VI**
1. TÍTULO **2**
2. RESUMEN **2**
SUMMARY **3**
3. INTRODUCCIÓN **4**
4. REVISIÓN DE LITERATURA **8**
4.1 ARTRITIS REUMATOIDEA 8
4.1.1 Definición. 8
4.1.2 Epidemiología. 9
4.1.3 Etiología. 9
4.1.4 Factores predisponentes. 10
4.1.4.1 Factores genéticos. 10
4.1.4.2 Factores ambientales. 10
4.1.4.2.1 *Género femenino*. 10
4.1.4.2.2 *Tabaquismo*. 10
4.1.4.2.3 *Infecciones* 11
4.1.5 Patogenia. 11
4.1.6 Cuadro Clínico. 12
4.1.7 Articulaciones. 12
4.1.8 PRUEBAS DE LABORATORIO. 13
4.1.8.1 Anticuerpos anti-péptido cíclico citrulinado (anti-CCP). 14
4.1.8.1.1 Definición. 14
4.1.8.1.2 Interpretación de resultados. 16
4.1.8.1.3 Diferencia entre el FR y Anti-CCP 16
5. MATERIALES Y MÉTODOS **19**

6. RESULTADOS 22
7. DISCUSIÓN 27
8. CONCLUSIONES 31
9. RECOMENDACIONES 32
10. BIBLIOGRAFÍA 33
11. ANEXOS 37
12. ÍNDICE 50