



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL  
POLIMORFISMO DE CÉLULAS ROJAS EN PACIENTES  
ALCOHOLICOS”**

Requisito previo para optar por el Título de Licencianda en Laboratorio Clínico

**Autora:** Quispe Ramírez, Magaly Esther

**Tutor:** Lcda. Msc. Escobar Suárez, Mónica Tatiana

**Ambato – Ecuador**

**Octubre, 2016**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el tema:

**“DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO DE CÉLULAS ROJAS EN PACIENTES ALCOHOLICOS”** de Quispe Ramírez Magaly Esther estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Junio del 2016

**LA TUTORA**

---

Lcda. Msc. Escobar Suárez, Mónica Tatiana

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO**

Los criterios emitidos en el Trabajo de Investigación “**DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO DE CÉLULAS ROJAS EN PACIENTES ALCOHOLICOS**”, como también contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, Junio del 2016

### **LA AUTORA**

---

Quispe Ramírez, Magaly Esther

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto de investigación o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este proyecto de investigación, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Junio del 2016

## **LA AUTORA**

---

Quispe Ramírez, Magaly Esther

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR**

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el **“DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO DE CÉLULAS ROJAS EN PACIENTES ALCOHOLICOS”** de Quispe Ramírez Magaly Esther, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Octubre del 2016.

Para constancia firman:

.....

PRESIDENTE/A

.....

1<sup>er</sup> VOCAL

.....

2<sup>do</sup> VOCAL

## **DEDICATORIA**

Este proyecto se lo dedico a Dios que con su bendición de darme vida, salud y sobre todo la fuerza he logrado culminar con éxito mi Carrera.

A mis hermosos padres TEREZA e ISIDRO por su apoyo incondicional tanto moral, económico, por enseñarme a luchar día a día por mis sueños, a valorar el esfuerzo de cada uno de ellos, por ser lo que son unos padres responsables, cariñosos y sobre todo rectos y rígidos frente a mis debilidades, que me enseñaron a luchar por sobre todas las cosas, a ser fuerte frente a tantos obstáculos que se nos presentaron y que a pesar de todo estoy aquí ya siendo una profesional como ellos lo deseaban y yo quería ofrecérselos, este éxito se los dedico con todo mi corazón a ellos, ya que sin su ayuda yo no sería nada, a ustedes mis padres hermosos por tanto amor y dedicación este éxito no es mío si no de ustedes y para ustedes.

A mis hermanos EDISON, BETTY, DIEGO, DANILO, KATERINE, ISIDRO Y ERIKA, que con sus voces de aliento me impulsaron a seguir luchando para que pueda cumplir con mi meta mi sueño tan anhelado, gracias por darme su amor, su apoyo por brindarme su amistad y porque a pesar de todo estamos unidos y claro que no somos una familia perfecta pero si la ideal que mis padres formaron.

A mis cuñados MILTON, NARCISA, ADRIANA, MARCO, que de una u otra forma me ayudaron y supieron llegar con sus palabras de aliento para que hoy sea una profesional.

**Magaly Quispe**

## **AGRADECIMIENTO**

A dos seres supremos llenos de muchas virtudes sin ningún defecto DIOS y la VIRGEN por darme la vida para cumplir mi meta.

A mí amada Universidad que me abrió las puertas desde el principio sin esperar nada a cambio tan solo mi esfuerzo y dedicación, y así formarme académicamente , como también a mis diferentes docentes por impartir sus conocimientos conmigo y así formarme ahora como una profesional.

A mis amados padres, hermanos, cuñados por ayudarme y confiar en mí a cada momento. También a Roberto que con su amor, confianza y apoyo me ayudó a cumplir con mi meta.

A mi tutora Dra. Mg. Tatiana Escobar, por guiarme con su sabiduría y tenerme paciencia para así terminar mi proyecto con éxito.

A las licenciadas Norma Álvarez, y Silvana Mena por brindarme su confianza y ayudarme en los momentos más difíciles de mi vida ellas fueron un pilar fundamental para que yo siguiera adelante con mi proyecto.

A mis amigas en especial a mi amiga Gabriela López, que con su amistad incondicional supo ser parte de este logro.

**Magaly Quispe**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

### PÁGINAS PRELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICES DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1

### CAPÍTULO I

#### EL PROBLEMA

1.1	TEMA.....	3
1.2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.1	CONTEXTO.....	3
1.2.2	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5



1.3	JUSTIFICACIÓN.....	5
1.4	OBJETIVOS.....	6

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

2.1	ESTADO DEL ARTE.....	8
2.2	FUNDAMENTO TEÓRICO.....	11
2.2.1	QUÍMICA SANGUÍNEA.....	11
2.2.2	VITAMINAS.....	12
2.2.3	CLASIFICACIÓN DE LAS VITAMINAS.....	13
2.2.4	MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS.....	26
2.2.5	VITAMINAS B12 Y SU RELACIÓN CON EL ALCOHOLISMO.....	27
2.2.6	PATOLOGÍAS ASOCIADAS AL ALCOHOLISMO.....	27
2.2.7	ESTUDIO DEL ERITROCITO.....	37
2.2.8	ALTERACIONES DEL ERITROCITO.....	41
2.2.9	ESTUDIO DE PLACA O EXTENSIÓN SANGUÍNEA.....	45
2.3	HIPÓTESIS.....	47

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

3.1	NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	49
3.2	SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO.....	50
3.3	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	51
3.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	52
3.5	DISEÑO MUESTRAL.....	52
3.6	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	54

3.7	DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	56
3.8	ASPECTOS ÉTICOS.....	69
<b>CAPÍTULO IV</b>		
<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>		
4.1	TABULACIÓN DE RESULTADOS.....	73
4.2	RESULTADOS DE LABORATORIO.....	81
4.12	VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	84
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>86</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>87</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>95</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	VALORES DE REFERENCIA DE LOS ERITROCITOS.....	41
TABLA No. 2	VALORES DE REFERENCIA DE VITAMINA B12.....	68
TABLA No. 3	RESULTADOS.....	73
TABLA No. 4	EDADES.....	74
TABLA No. 5	GÉNERO.....	76
TABLA No. 6	TIEMPO QUE ACUDE MOVIMIENTO INTERNACIONAL 24 HORAS ALCOHOLICOS ANÓNIMOS “GRUPO LATACUNGA”.	77
TABLA No. 7	TIEMPO DE CONSUMO DE ALCOHOL.....	79
TABLA No. 8	CARÁCTERISTICAS CELULARES.....	81
TABLA No. 9	VITAMINA B12.....	83
TABLA No. 10	CARÁCTERISTICAS DE LAS VITAMINAS	105

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No. 1	EDADES.....	75
GRÁFICO No. 2	GÉNERO.....	76
GRÁFICO No. 3	TIEMPO QUE ACUDE MOVIMIENTO INTERNACIONAL 24 HORAS ALCOHOLICOS ANÓNIMOS “GRUPO LATACUNGA”.....	78
GRÁFICO No. 4	TIEMPO DE CONSUMO DE ALCOHOL.....	79
GRÁFICO No. 5	CARÁCTERÍSTICAS CELULARES.....	81
GRÁFICO No. 6	VITAMINA B12.....	83

## ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

FIGURA No. 1	LUGAR DONDE SE TOMO LAS MUESTRAS PARA SU POSTERIOR INVESTIGACIÓN.....	98
FIGURA No. 2	ENTREGA DE INFORMACIÓN HACIA LOS PACIENTES DEL MOVIMIENTO.....	98
FIGURA No. 3,4	TOMA DE MUESTRAS MEDIANTE PUNCIÓN VENOSA A LOS PACIENTES PARTICIPANTES DEL MOVIMIENTO.....	99
FIGURA No. 5,6,7,8	PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA LA REALIZACIÓN DEL FROTIS SANGUÍNEO.....	100
FIGURA No. 9	OBSERVACIÓN DE LOS FROTIS SANGUÍNEOS CON LA SUPERVICIÓN DE LA DR. TATIANA ESCOBAR EN EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.....	101
FIGURA No. 10,11	DESECHAMOS EL CONTENIDO Y REALIZAMOS EL LAVADO ADICIONAL.....	101
FIGURA No. 12,13	MUESTRAS Y EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12.....	102
FIGURA No. 14,15,16	INGRESO DE LA PRUEBA VITAMINA B12 AL EQUIPO STAT FAX.....	102
FIGURA No. 17,18,19,20	AGITAR SUAVEMENTE, CUBRIR LOS POCILLOS Y ESPERAR 45 MINUTOS.....	103
FIGURA No. 21,22	ADICIÓN DE REACTIVO ENZIMATICO DE VITAMINA B.....	104
FIGURA No. 23,24	ADICIÓN DE SOLUCIÓN DE PARADA Y MEZCLA DE 15 SEGUNDOS SUAVEMENTE, LECTURA DESPUES DE LOS 30 MINUTOS.....	104

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	PROCESAMIENTO DE LA TOMA DE MUESTRA EN EL MOVIMIENTO INTERNACIONAL 24 HORAS “GRUPO LATACUNGA” Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO “ALVAREZ”.....	98
ANEXO No. 2	CARÁCTERISTICAS DE LAS VITAMINAS.....	104
ANEXO No. 3	FORMATOS DE RESULTADOS DE LABORATORIO...	106
ANEXO No. 4	AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO CLÍNICO ALVAREZ PARA LA REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS DE VITAMINA B12 Y FROTIS SANGUÍNEO.....	107
ANEXO No. 5	OFICIO PARA PEDIR AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR E PROYECTO DE INVESTIGACIÓN EN EL CENTRO DE ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA.....	108
ANEXO No. 6	VOLANTE INFORMATIVO ENTREGADO EN EL CENTRO DE ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA.....	109
ANEXO No. 7	INSERTO UTILIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12.....	110
ANEXO No. 8	AUTORIZACIÓN DEL CENTRO DE ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA.....	112

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

**DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL  
POLIMORFISMO EN CELULAS ROJAS EN PACIENTES  
ALCOHOLICOS.**

**Autora:** Quispe Ramírez Magaly Esther

**Tutora:** Escobar Suárez Mónica Tatiana

**Fecha:** Mayo del 2016

**RESUMEN**

La siguiente investigación se la realizó con el fin de determinar la vitamina B12 y relacionarla con el polimorfismo en células rojas, en pacientes alcohólicos que acuden al Movimiento Internacional 24 horas “GRUPO LATAACUNGA”

En el presente estudio se contó con la participación de 40 pacientes con antecedentes alcohólicos de aproximadamente 7 a 12 años de consumo, también de tratamientos que en muchos de los casos a dado resultado, estos acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATAACUNGA” en un rango de tiempo de más o menos de 4 a 6 años, se realizó la extracción sanguínea para el análisis de la determinación de vitamina B12 y para realizar el frotis sanguíneo el cual me permitió evaluar el polimorfismo en las células rojas o hematíes, y así cumplir con los objetivos planteados en la

investigación , teniendo como resultados en la vitamina B12 un 80% se encuentran con los valores disminuidos, mientras que en el polimorfismo tuvimos un 82.5% en lo que es la Macrocitosis y un 67,5% de hipersegmentación de los neutrófilos, dando anotar lo que es característico en la anemia megaloblástica causada por deficiencia de vitamina B12 en pacientes alcohólicos .

Se realizó la comprobación de hipótesis por medio de la prueba estadística **t de student** para muestras independientes la cual dio como resultado el tener un margen de error= 0,000 que es menor a 0,005 que es el nivel de significancia rechazando así la hipótesis la nula y aceptando la alterna la cual menciona que los niveles disminuidos de vitamina B12 en conjunto con el polimorfismo de células rojas es decir macrocitosis e hipersegmentación de los neutrófilos, que suele presentarse en anemia megaloblástica en pacientes con antecedentes alcohólicos.

**PALABRAS CLAVES:** VITAMINA\_B12, POLIMORFISMO\_CÉLULAS ROJAS, HIPERSEGMENTACIÓN\_NEUTROFILOS Y MACROCITOSIS.



**TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO**  
**FACULTY OF SCIENCES OF THE HEALTH**  
**CARRIER OF CLINICAL LABORATORY**

**“DETERMINATION OF VITAMIN B12 AND ITS RELATIONSHIP WITH  
RED OR POLYMORPHISM IN CELLS IN PATIENTS ALCOHOLICS”**

**Author:** Quispe Ramírez, Carmen Mercedes

**Tutor:** Escobar Suárez Mónica Tatiana

**Date:** May 2015

**SUMMARY**

The following research was made in order to determine vitamin B12 and relate polymorphism in red cells, in alcoholic patients attending the International Movement 24 Hours "GROUP LATACUNGA"

In the present study it had the participation of 40 patients with alcoholic history of approximately 7 to 12 years of consumption, also of treatments that in many cases as a result, they come to the International Movement 24 hours Alcoholics Anonymous "GROUP LATACUNGA" in a time range of about 4 to 6 years, blood sampling for analysis of the determination of vitamin B12 was performed and to perform the blood smear which allowed me to evaluate polymorphism in red cells or red blood cells, and and meet the objectives in research, with the results in vitamin B12 80% are the values decreased, while the polymorphism had a 82.5% what is the Macrocytosis and 67.5% of hypersegmentation neutrophils, giving record what is characteristic megaloblastic anemia caused by vitamin B12 deficiency in alcoholic patients.

Hypothesis testing was performed using the statistical Student t-test for independent samples which resulted in having a margin of error = 0.000 which is less than 0.005 which is the level of significance thus rejecting the hypothesis null and accepting AC which mentions that decreased levels of vitamin B12 in conjunction with red cell polymorphism that is macrocytosis and hypersegmentation neutrophil, usually seen in megaloblastic anemia in patients with alcoholic history.

**KEYWORDS:** VITAMIN\_B12, POLYMORPHISM\_RED\_CELLS,  
NEUTROPHILS \_ HYPERSEGMENTATION AND MACROCYTOSIS.

## INTRODUCCIÓN

El alcoholismo es problema de salud bastante grande que afecta mucho tanto a mujeres como a hombres debido a la gran demanda que existe de este producto, las malas influencias a las que están expuestos los adolescentes sobre todo y pacientes que recurren al alcohol debido a problemas familiares.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) denomina en la actualidad al alcoholismo "síndrome de dependencia del alcohol" y está incluido en el capítulo V de la Clasificación Internacional de Enfermedades No. 10 (CIE-10).

El alcoholismo forma a su vez parte de una categoría denominada "Trastornos mentales y del comportamiento debidos al consumo de sustancias psicótropas". Como el sitio oficial está en inglés vamos a citar una definición del documento Cuestionario de Identificación de los Trastornos debidos al Consumo de Alcohol (AUDIT), Organización Mundial de la Salud. "La dependencia es un conjunto de fenómenos conductuales, cognitivos y fisiológicos que pueden aparecer después del consumo repetido de alcohol. (1)

La presente investigación tiene como objetivo determinar la Vitamina B12 en pacientes alcohólicos y su influencia con el polimorfismo en células rojas. También es muy importante realizar la determinación de vitamina B12 y el estudio morfológico de células rojas o hematíes para llegar a conocer como se alteran estos valores en pacientes alcohólicos.

Se realizó la determinación de vitamina B12 y el estudio morfológico de células rojas o hematíes en 40 pacientes con antecedentes alcohólicos, para observar cómo se encuentran los niveles de esta vitamina y si existe o no polimorfismo en células rojas, teniendo como resultado que en personas con antecedentes

alcohólicos de más de 4 años la vitamina B12 tiende a disminuir y el polimorfismo de células rojas está presente con alteraciones como macrocitos e hipersegmentación de los neutrófilos, que es característico de anemia megaloblástica.

# **CAPÍTULO I**

## **EL PROBLEMA**

### **1.1 TEMA**

Determinación de Vitamina B12 y su relación con el Polimorfismo de Células Rojas en Pacientes Alcohólicos.

### **1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

#### **1.2.1 CONTEXTO**

De acuerdo a el ámbito social en que estamos viviendo hoy en día con la sociedad ha surgido cambios tanto sociales como económicos llevando consigo una serie de enfermedades y adicciones entre estas el alcoholismo que es un mal social no solo en el Ecuador si no a nivel mundial, impidiendo así mantener una buena relación ya sea familiar y con la sociedad en sí, este ha sido el causante en el año 2014 según los datos que INEC expresa, que alrededor de 9125 personas consumen alcohol del porcentaje y la prevalencia resulta ser mayor en hombres 89.7% y en el caso de las mujeres resaltan un 10.3% todos estos datos fueron recogidos mediante encuestas realizadas a personas mayores de 17años.

En el Ecuador en el período 2010 CONSEP y la OMS, indican que los casos de morbilidad en pacientes alcohólicos se ha sumado en un porcentaje de 19,56% del total de la población de trastornos mentales y de comportamiento, debido al uso de alcohol, síndrome de dependencia y de acuerdo a enfermedad hepática no especifica, las cifras para el mismo año en morbilidad es de 4.79%, de un total de

2.138 muertes relacionadas al consumo de alcohol y drogas el 97.43% están relacionada al consumo de alcohol.

En vista que el alcoholismo es un problema social la Organización Mundial de la Salud (OMS) dice que en el país se han registrado 700 mil personas con el mal, de estas el 30% no puede acudir a centros de rehabilitación y a hospitales para realizarse estudios debido a la mala relación social que en si lo caracteriza a este tipo de pacientes. (2)

A nivel de la provincia de Cotopaxi, la alta incidencia de anemia megaloblastica en pacientes con antecedentes alcohólicos se atribuye a múltiples factores de acuerdo a la naturaleza de su estudio, procedencia de los individuos y características geográficas de esta zona.

En el 2007 la prevalencia de consumo de alcohol y entre ellas el tabaco alcanzaron una cifra de 76,09%. INEC al realizar una encuesta determinaron que la edad promedio de inicio de consumo de bebidas alcohólicas es desde los 13 años en adelante.

A nivel de la ciudad de Latacunga por encuestas realizadas a la ciudadanía se conoce que el alcoholismo es común, en adolescentes y adultos mayores debido al alto grado de demanda alcohólica. Se estima que más del 30% de los habitantes de la ciudad de Latacunga viven con dependencia en el alcohol. La prevalencia del alcoholismo en los habitantes de esta ciudad llegaría a ser tan alta como del 50% especialmente en adolescentes y adultos mayores, debido a la mala influencia en los adolescentes o debido a problemas familiares, los adultos recurren al alcohol debido a la soledad. (3)

En cuanto se refiere al Movimiento Internacional de Alcohólicos Anónimos 24 horas “GRUPO LATACUNGA”, su compromiso es ayudar a las personas que

tienen problemas con el alcohol y las drogas las 24 horas del día, en su totalidad son 100 pacientes alcohólicos en busca de ayuda psicológica, sin tratamiento farmacológico alguno.

### **1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Qué relación existe en la determinación de la Vitamina B12 en pacientes alcohólicos con el polimorfismo en células rojas?

### **1.3 JUSTIFICACIÓN**

El déficit de vitamina B12 es frecuente, especialmente en pacientes con antecedentes alcohólicos, en nuestro ámbito existe una gran demanda de enfermedades entre ellas la anemia megaloblástica, que es asociada a un polimorfismo en los eritrocitos, e hipersegmentación en los neutrófilos, los cuales son parámetros característicos de esta enfermedad, en los pacientes que acuden al Movimiento Internacional de Alcohólicos Anónimos 24 horas “GRUPO LATACUNGA” realicé exámenes tales como la determinación de Vitamina B12 y el estudio morfológico de las células rojas o hematies mediante estudio de placa, para relacionarlo así obtenido ya los resultados de los análisis, y evidenciar así esta realidad que aqueja esta población.

La importancia que tiene el presente estudio es crear un programa de tamizaje de anemia megaloblástica el cual nos ayudará a la detección de la misma y así buscar una solución.

El desarrollo de la presente investigación es factible debido a que el Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA” nos

dio la apertura para desarrollar este proyecto de investigación además de que se cuenta con los recursos, materiales, económicos y humanos necesarios que necesito para la realización de este proyecto.

Es factible señalar que con esta investigación se beneficiaría a la conservación de la salud de los pacientes que acuden al centro ya antes mencionado.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la Vitamina B12 sérica en pacientes alcohólicos y su relación con el polimorfismo en células rojas.

### **1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar las alteraciones más frecuentes en la fórmula hemática de pacientes alcohólicos, evaluando la prevalencia de polimorfismo en los eritrocitos, mediante la observación morfológica de las células rojas o hematies con el estudio de placa.
- Relacionar el tiempo de alcoholismo con la aparición de alteraciones en la fórmula hemática, determinando la prevalencia de un déficit de vitamina B12 en pacientes alcohólicos que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”.



- Analizar si el polimorfismo de células rojas se relaciona con los valores de la Vitamina B12, desarrollando un programa de tamizaje de anemia megaloblástica en el Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ESTADO DEL ARTE

El trabajo realizado por Thomas Addison, titulada, **HISTORIA DE ANEMIA MEGALOBLASTICA**, comienza en 1855 a principios del siglo XX, la anemia megaloblástica atrajo la atención de algunos médicos de Boston. En 1908, Richard Cabot informaba que la duración de la supervivencia entre 1.200 pacientes era de 1 a 3 años después de la aparición de la sintomatología. Francis Weld Peabody y George Richards Minot compartieron una profunda apreciación de la importancia de la morfología celular en el diagnóstico y seguimiento del trastorno. Observaciones de Peabody en biopsias de médula ósea de pacientes con la anemia llevaron a la conclusión que la producción de glóbulos rojos era desordenada e ineficaz. George Whipple de la Universidad de Rochester había explorado el efecto de la dieta sobre la regeneración de las células rojas en perros después de la flebotomía periódica. Estos experimentos condujeron a Peabody y Minot a iniciar de forma independiente ensayos dietéticos en tales enfermos.

Minot unió fuerzas con William Murphy en el Hospital Peter Bent Brigham. Los dos eran extraordinariamente detallistas, tanto en la clínica como en el laboratorio. Los resultados de Whipple en perros sugirieron que el hígado debería ser el componente clave del régimen alimenticio. En 1926, Minot y Murphy informaban de sus conclusiones en 45 personas con anemia megaloblastica que habían sido tratadas con una "dieta especial" consistente en hígado braseado (casi crudo), junto con carne de res o de cordero y fruta fresca. Al final de la primera semana

de tratamiento, un aumento notable en el número de nuevos glóbulos rojos (reticulocitos) estuvo acompañado con una mejora en el bienestar.

Luego, demostró que la administración intragástrica de jugo gástrico normal y carne de músculo era efectiva sólo si se daba dentro de un período de 12 horas. Posteriores análisis de Castle y otros investigadores mostraron que el factor intrínseco en el jugo estomacal era una proteína necesaria para la absorción de pequeñas cantidades de vitamina B12 en el intestino delgado distal. (4)

Según el estudio realizado en Santiago de Chile en Noviembre del 2012, por los autores. Alex Brito, Eva Hertrampf, Manuel Olivares, Diego Gaitán, Hugo Sánchez, Lindsay H. Allen, Ricardo Uauy, titulado **FOLATOS Y VITAMINA B12 EN SALUD HUMANA**, la vitamina B12 la podemos encontrar de manera natural en alimentos de origen animal, los cuales incorporan esta vitamina en sus tejidos, huevos y leche se estima que el aporte de vitamina B12 al día es de 5-7 ug teniendo una buena dieta el aporte de vitamina B12 es de 50%, por tanto los análisis realizados por este grupo de investigadores señalan que la ingesta dietética de vitamina B12 es de 2.9 – 1.2 ug/día alcanzándose la ingesta media recomendada en tan solo 66 % de adultos mayores en Santiago de Chile.

La deficiencia de estas vitaminas los han definido de acuerdo a los signos y síntomas, obteniendo los resultados séricos de cada una de estas vitaminas en definitiva la deficiencia clínica de vitamina B12 es la presencia de anemia megaloblástica, y la deficiencia de folatos es la ausencia anemia megaloblástica. Chile después de la intervención de la deficiencia de folatos es demostró que existen menor a 1% en grupos de edad distinta, la deficiencia de vitamina B12 oscila entre 8.5 y 51 %. La encuesta nacional de salud 2010 mostro que la deficiencia de folatos < 12 nmol/L y de vitamina B12 < 148 pmol/L en sujetos

menores de 60 años era de 0.6 % y 8.5 % equitativamente. Ya que en el mundo existen pocas encuestas nacionales de estas vitaminas. (5)

En otro estudio sobre **MACROCITOSIS: CAUSAS, DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL**, realizado por Elsa Mercedes Nucifora 1, Nora Basack enuncia que las anemias macrocíticas tienen en común que los eritrocitos son más grandes que de lo normal, producto de la deficiencia de la vitamina B12, como también otras anemias macrocíticas de etiologías variadas como el alcoholismo, fármacos, hipotiroidismo y enfermedades hepáticas, en este estudio se comprobó que estadísticamente un 3% de la población general adulta presenta macrocitos, en una revisión etiológica de macrocitos en pacientes de 6-12 años fue la ingesta de medicamentos, cuando se observa en el frotis sanguíneo macro-ovalocitos e hipersegmentación neutrófila es directamente relacionada a la deficiencia de vitamina B12.

El alcohol es una de las causas relacionadas a la macrocitos, asociada fuertemente con la desnutrición y enfermedad hepática, en donde la anemia es un factor pronóstico adverso en paciente con enfermedades hepáticas y alto consumo de alcohol asociada a la mortalidad la anemia macrocítica causada por el consumo excesivo de alcohol presenta en la médula ósea sideroblastos en anillo, los investigadores han comprobado dos mecanismos por los que el alcohol produce anemia macrocítica, la primera es la megaloblastosis y el efecto tóxico directo que este ocasiona sobre los precursores eritroides, hay que tomar en cuenta que todos estos son reversibles con la supresión del tóxico y la administración de folatos. (6)

En otro estudio realizado por el autor Conde, Dra. Alicia enuncian en su investigación titulada como **VITAMINA B12** que la vitamina b12 fue descubierta hace 60 años, la cual no tiene bien definido sus características tanto fisiológicas como neurológicas no han sido bien definidos. (7)

La definición dada por los autores Ortiz María en el año 2011 en el mes de noviembre dicen que la vitamina es la más grande es llamada también cobalamina ya que en su estructura química contiene un átomo de cobalto siendo que es la única vitamina que presenta esta característica, presenta un peso molecular de 1.335 Da, es muy importante ya que ayuda a múltiples funciones en nuestro organismo. (8)

## **2.2 FUNDAMENTO TEÒRICO**

### **2.2.1 QUÍMICA SANGUINEA**

El laboratorio clínico es un área muy amplia y además fundamental, ya que cada uno de sus resultados en los exámenes ayudan al médico a diagnosticar enfermedades para posteriormente proporcionar tratamientos oportunos, entre estos, mide el azúcar en la sangre realizando una glucosa, electrolitos como sodio, potasio, cloro, también enzimas como las del perfil hepático, los lípidos conocidos como grasas, proteínas como la albumina, entre otras sustancias metabólicas como el ácido úrico, la creatinina (9) (10)

Según X. Fuentes deduce que la química clínica es la rama que engloba por completo al laboratorio clínico por qué se dedica al estudio in vitro in vivo de las propiedades bioquímicas, con el fin de ayudar a prevenir, ayudar al diagnóstico y un pronóstico en los tratamiento de las enfermedades, por lo tanto el analista es el responsable de tomar las muestras correctamente, para su posterior análisis, validación e interpretación de resultados. (11)

### 2.2.2 VITAMINAS

Son sustancias que el cuerpo necesita para cumplir con varias funciones como el crecimiento y desarrollo normal de todo nuestro organismo.

La mejor manera de obtener vitaminas es consumiendo alimentos sanos y diversos. Existen un sinnúmero de vitaminas que se las puede adquirir a través de los alimentos como la A,B,C,D,E y las que son producidas por nuestro mismo cuerpo como la D y K. cada una de las vitaminas cumplen una función específica en nuestro cuerpo como por ejemplo la vitamina D ayuda a prevenir el raquitismo, la vitamina A, previene la ceguera, es por eso que para evitar cualquier enfermedad lo recomendable es consumir alimentos con una dieta balanceada para el buen funcionamiento de nuestro organismo. (12)

Las vitaminas provienen del latín vita que significa “vida” y del griego “ammoniakós” producto libio, amoniaco con el sufijo latino ina que significa “sustancia” los cuales son compuestos heterogéneos muy importantes para la vida que ingiriéndolos en porciones adecuadas y equilibradas originan el buen funcionamiento fisiológico de nuestro cuerpo, existen vitaminas que no pueden ser sintetizadas fácilmente por nuestro organismo. Las vitaminas con nutrientes que junto con otros mecanismos nutricionales actúan como catalizadores de todos los procesos fisiológicos directa o indirectamente. Las vitaminas son precursoras de las coenzimas, lo cual la molécula de las vitaminas con un pequeño cambio en su estructura pasa a ser la molécula activa sea esta una coenzima o no. Nuestro cuerpo para su buen funcionamiento necesita tan solo dosis pequeñas de vitaminas, ya que tanto el déficit como el exceso de vitaminas corporales pueden producir enfermedades. El déficit de vitaminas se la conoce como “avitaminosis” y el exceso se denomina “hipervitaminosis”

Está demostrado que las vitaminas del grupo B son imprescindibles para el correcto funcionamiento del cerebro y el metabolismo corporal. Este grupo es hidrosoluble (solubles en agua) debido a esto son eliminadas principalmente por la orina, lo cual hace que sea necesaria la ingesta diaria y constante de todas las vitaminas del complejo “B” (contenidas en los alimentos naturales). (13)

### **2.2.3 CLASIFICACIÓN DE LAS VITAMINAS**

Las vitaminas se clasifican según su solubilidad, hidrosolubles e liposolubles.

Nuestro cuerpo cuenta con alrededor de 13 vitaminas que están clasificados según su grupo tenemos 9 hidrosolubles entre estas 8 del complejo B y la vitamina C y 4 liposolubles A, D, E, K.

#### **VITAMINAS LIPOSOLUBLES**

Las vitaminas liposolubles son consumidas con los alimentos que contienen grasa, ya que son las que se encargan de disolver las grasas y los aceites de nuestro organismo, las cuales se encuentran almacenadas en el hígado y en los tejidos grasos, por lo mismo ya que se encuentran almacenadas en la grasa pueden seguir consumiéndose como nuestra reserva vitamínica cuando no se ha consumido un aporte suficiente diario, ya que el consumo exagerado de las vitaminas puede ocasionar una intoxicación.

Las vitaminas liposolubles son:

- Vitamina A (retinolftalina)
- Vitamina D (calciferol)
- Vitamina E (tocoferol)

- Vitamina K (antihemorrágica)

Su característica principal es la de no contener nitrógeno, otras características como transportarse a través de las grasas de los alimentos, son muy estables frente al calor, se absorben en el intestino delgado con la grasa alimentaria, no es excretada por la orina.

## **VITAMINAS HIDROSOLUBLES**

Estas vitaminas son aquellas que se disuelven en el agua, son coenzimas que están involucradas en muchas reacciones químicas del metabolismo.

Las vitaminas hidrosolubles son:

- B<sub>1</sub> (tiamina), B<sub>2</sub> (riboflavina), B<sub>3</sub> (niacina o ácido nicotínico), B<sub>5</sub> (ácido pantoténico), B<sub>6</sub> (piridoxina), B<sub>7</sub>/B<sub>8</sub> (biotina), B<sub>9</sub> (ácido fólico), B<sub>12</sub> (cobalamina) y Vitamina C (ácido ascórbico).

Las características:

- No contienen nitrógeno en su molécula (menos la vitamina C).
- No se almacenan en el organismo (a excepción de la vitamina B<sub>12</sub>)
- La vitamina B<sub>12</sub> se almacena en el hígado.
- Estas vitaminas consumidas en exceso se excretan por la orina.

Las vitaminas, son muy importantes para cumplir con los procesos metabólicos de nuestro cuerpo, las vitaminas sin embargo no aportan energía, no se utilizan



como combustible, pero sin las vitaminas nuestro cuerpo sería incapaz de aprovechar los elementos constructivos y energéticos suministrados por la alimentación.

Las vitaminas son utilizadas normalmente por nuestras células como antecesoras de coenzimas, dando lugar a un sin número de enzimas que se encargan de regular las reacciones químicas por las cuales viven las células. Ayudando a convertir los alimentos en energía, las necesidades vitamínicas van cambiando de acuerdo a la edad la actividad que tenga el ser humano. Las vitaminas se adquieren a través de la alimentación, nuestro cuerpo solo no puede sintetizarlas como lo hace con la vitamina D que se la puede adquirir con la exposición al sol o las vitaminas, generalmente las vitaminas K, B1, B12 están presentes en pequeñas cantidades en nuestra flora intestinal. (14)

## **VITAMINA A**

Es también llamada Retinol o antixeoftálmica, esta vitamina se la encuentra en los alimentos de origen animal , en el hígado en grandes cantidades y en el tejido graso de la piel también se almacena en las palmas d las manos y pies es por eso que podemos durar un tiempo prudente sin su consumo, ya que es una sustancia antioxidante por que eliminan radicales libres para proteger al ADN de su acción mutágena y prevenir el envejecimiento celular, por lo cual su función principal es la formación y sostenimiento de la piel, membranas mucosas, dientes y huesos, además participa en la producción de enzimas en el hígado y de hormonas sexuales y suprarrenales, hay que tomar mucho en cuenta que la deficiencia de esta vitamina ocasiona ceguera, y el exceso trastornos óseos por ende interfiere en el crecimiento, detiene la menstruación y produce alteraciones en los glóbulos rojos.

Las fuentes en donde se las puede encontrar esta vitamina. Yema de los huevos pero sin exceso, aceite de soya, mantequilla, zanahoria, espinacas, hígado, leche, queso, tomate, lechuga. (15)

## **VITAMINA C**

También llamado.- Ácido ascórbico o vitamina antiescorbútica esta es necesaria para la producción de colágeno ya que se trata de una proteína muy importante que ayuda a la cicatrización de heridas, repara las encías, vasos, huesos y dientes, y metabolizan las grasas la cual tiene mucha eficacia para reducir el colesterol, es por eso que el consumo de esta vitamina es muy importante ya que une a las células para formar tejidos el aporte de esta vitamina en las frutas y verduras serán muchos más si se las consume frescas no muy maduras las frutas y las verduras sin mucha cocción ya que esta vitamina se destruye al calor. Cuando la vitamina es deficiente produce escorbuto.

Las principales fuentes en donde está presente esta vitamina son: la leche de vaca, hortalizas, verduras, cereales, carne, frutas, cítricos. (16)

## **VITAMINA D**

Llamada también calciferol o antirraquítica, es encargada de proporcionar energía al intestino para permitir la absorción de nutrientes como son el calcio y las proteínas, es importante porque protege los dientes y los huesos. Se la adquiere a través de provitaminas de origen animal que se dan lugar al exponernos al sol, un déficit de esta vitamina ocasiona en los niños malas formaciones óseas, caries dental, y hasta raquitismo, pero en los adultos pueden ocasionar osteoporosis.

Las fuentes en donde se las puede encontrar a esta vitamina son en la leche, yema de huevo, sardina, atún, queso, hígado y cereales.

## **VITAMINA E**

Es también llamada tocoferol o restauradora de la fertilidad, esta vitamina es muy importante porque se encarga de la formación de los glóbulos rojos, músculos y otros tejidos, es importante y necesita para la formación de células sexuales masculinas y en la anti esterilización. La función más importante que esta desempeña es la de participar como un antioxidante evitando el envejecimiento de las células, gracias a que la vitamina E actúa como antioxidante ayuda a que el pulmón no se contamine aporta con oxígeno al organismo y retarda el envejecimiento celular manteniendo joven al cuerpo, interviene en la cicatrización de quemaduras, evita los abortos espontáneos y calambres en las piernas. Si la vitamina es deficiente ocasiona distrofia muscular, infertilidad y anemia.

Fuentes en donde se la puede encontrar. Chocolates, legumbres, verduras, leche etc.

## **VITAMINA K**

Llamada también antihemorrágica o Filoquinona, esta vitamina participa con el metabolismo como coenzima formando así parte de una proteína llamada protrombina ya que esta es la proteína que participa en la coagulación sanguínea. El déficit de esta vitamina ocasiona, lesión cerebral en niños, anemia en adultos y hemorragias incontrolables.

**K1**.- se la obtiene a partir de vegetales de hojas verdes.

**K2** se obtiene a partir de derivados de pescados.

**K3** la produce la flora intestinal las necesidades de esta vitamina en la dieta son poco importantes.

Las fuentes en donde se las puede encontrar la vitamina K es en las legumbres, hígado, aceite de soya, yema de huevo y en las verduras.

## **VITAMINAS DEL GRUPO B**

Vitaminas hidrosolubles entre estas tenemos:

### **COMPLEJO B**

Son sustancias frágiles solubles en el agua y son muy importantes para el metabolismo de los hidratos de carbono. Esta contiene un factor hidrosoluble B que tiene diferentes actividades vitamínicas.

### **VITAMINA B1**

Llamada también Tiamina, aneurinao antiberibérica, metaboliza los glúcidos y lípidos que dan lugar a la formación de energía, actúa en casos de depresión, irritabilidad, pérdida de memoria, concentración y agotamiento, también aporta como factor de crecimiento, digestión de los carbohidratos, funciones nerviosas y cardiacas. Su deficiencia causa beriberi, ataque al corazón.

Las principales fuentes en donde se puede encontrar esta vitamina: legumbres, cereales, carnes y frutas.

## **VITAMINA B2**

Se la conoce también como riboflavina tiene la misma característica que la Tiamina ya que actúa como una coenzima, se combina con una enzima para ayudar con el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas proteínas ya que son las que participan en el transporte de oxígeno, ayudando a mantener bien las membranas mucosas. El déficit de esta vitamina puede ser grave si existe una carencia de otras vitaminas del grupo B en nuestro cuerpo, causa lesiones en los labios y la nariz.

Las principales fuentes de vitamina B2 son: trigo, verduras, cereales, lentejas, hígado, leche, carne, coco, pan y queso.

## **VITAMINA B3**

Denominada nicotinamida, esta vitamina actúa en el metabolismo de hidratos de carbono, grasas y proteínas, es un vasodilatador, actúa como sustento fisiológico de la piel, lengua y el sistema digestivo. Es poco común encontrar en deficiencia a esta vitamina porque nuestro organismo es capaz de producir una cantidad de niacina a partir del triptófano, aminoácido que forma parte de muchas proteínas que la adquirimos en la alimentación mixta, al consumir esta vitamina en grandes cantidades ayuda a reducir los niveles de colesterol en la sangre, no es recomendable consumir esta vitamina en grandes cantidades ya que pueden ocasionar daños en el hígado, esta vitamina libera energía y ayuda a mantener la integridad de las células de nuestro organismo y formar neurotransmisores, actúa en la síntesis de hormonas sexuales, para la elaboración de cortisona, tiroxina, e insulina en nuestro organismo.

Fuentes de esta vitamina: harina integral de trigo, pan de trigo integral, levadura de cerveza, salvado de trigo, hígado de ternera, germen de trigo, arroz integral, almendras.

## **VITAMINA B5**

Llamada también ácido pantoténico, esta vitamina interviene en el metabolismo celular como coenzima en la liberación de la energía a partir de las grasas, proteínas y carbohidratos, forma parte de la coenzima que en actividad con las moléculas intervienen en el metabolismo energético, en la síntesis de hormonas anti estrés a partir del colesterol, en la síntesis y degradación de los ácidos grasos, en la formación de anticuerpos.

Las principales fuentes en donde se las puede encontrar es la levadura de cerveza, vegetales verdes, yema de huevo, cereales, viseras, maní, carnes y frutas.

## **VITAMINA B6**

Llamada también Piridoxina esta vitamina ayuda en la formación de glóbulos rojos ya la utilización de las grasas de nuestro cuerpo, mejora la regeneración del tejido nervioso para debilitar los efectos negativos de la radioterapia, evita mareos. El déficit de esta vitamina produce depresiones, convulsiones, fatiga, alteraciones de la piel, aberturas en los labios, mareos, anemia y cálculos en los riñones. Esta vitamina es muy importante porque asimila adecuadamente las proteínas, los hidratos de carbono y las grasas, el cuerpo elabora anticuerpos y glóbulos rojos, produce la vitamina B3, ayuda a que se absorba la vitamina b12 y a producir el ácido clorhídrico del estómago e interviene en el metabolismo del magnesio.

Las principales fuentes en donde se puede encontrar esta vitamina son en casi todos los alimentos origen animal y origen vegetal.

## **VITAMINA B8**

Biotina, esta es una coenzima que participa en la transferencia de grupos carboxilo (- COOH) interviene en la reacciones que producen energía y en el metabolismo de los ácidos grasos, formación de glucosa, es fundamental para el buen crecimiento de la piel y sus órganos, para el desarrollo de las glándulas sexuales, la carencia de esta vitamina produce depresión, dolores musculares, anemia, fatiga, náuseas, dermatitis, alopecia y alteraciones en el crecimiento. Fuentes principales en donde se puede encontrar esta vitamina: levadura de cerveza, yema de huevo, riñones, coliflor, hígado, leche, frutas.

## **VITAMINA B9**

Llamada también ácido fólico, folina o ácido pteroil-L-glutámico vitamina importante para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina, esencial para el crecimiento y desarrollo del ser humano, es también importante para el buen funcionamiento de los nervios y del cerebro, ayuda a reducir los niveles sanguíneos del aminoácido homocisteína, protege al pulmón, colon y cuello uterino para evitar un cáncer, a ayuda a evitar la pérdida de memoria en el envejecimiento. Las mujeres embarazadas deben consumir esta vitamina ya que ayuda al crecimiento normal del feto evitando anomalías en el cerebro y columna del recién nacido. La deficiencia de esta vitamina se relaciona en si con los defectos en el nacimiento, él bebe nace con bajo peso, las mujeres alcohólicas y las embarazadas tienen mayor predisposición a la pérdida de la vitamina B9.

Los alimentos en donde se puede encontrar esta vitamina es en las espinacas, plátanos, melones verduras, legumbres el consumo de cítricos, productos horneados y cereales. (17)

## **VITAMINA B12**

La vitamina B12 o cianocobalamina es esencial en la síntesis del DNA. Esta es una coenzima que interviene en la síntesis de la metionina (síntesis de purina) y en la conversión del ácido metilmalónico en ácido succínico (ácidos grasos y metabolismo alifático de aminoácidos). El organismo utiliza los depósitos de vitamina B12 muy económicamente, reabsorbiendo la vitamina B12 del íleon y regresando al hígado donde es excretado muy poco. En la deficiencia de vitamina B12 los hallazgos clínicos y de laboratorio incluyen anormalidades neurológicas, disminución de los niveles de vitamina B12, aumento en la excreción del ácido metilmalónico y anemia macrocítica caracterizada por maduración megaloblástica anormal de los precursores eritrocitarios de la médula ósea. Las anormalidades neurológicas de la deficiencia de vit.B12 resultan probablemente de un defecto en la síntesis de la mielina como también de la acumulación anormal de lípidos. La anemia perniciosa es una anemia macrocítica causada por la deficiencia de vitamina B12 debida a la falta de factor intrínseco. La baja ingesta de vitamina B12, enfermedades del intestino delgado, gastrectomía, mala absorción y deficiencia de transcobalaminas, pueden causar deficiencia de VitaminaB12.

La deficiencia de vitamina B12 afecta la apariencia de las células que se forman en la superficie externa del cuerpo y recubren conductos internos (células epiteliales). (18)

## **ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA VITAMINA B12**

Esta vitamina es muy similar a la porfirinas, la vitamina b12 pertenece al grupo de los compuestos corinoides, una resulta de la unión de 4 anillos pirrólicos, alrededor de un átomo central de cobalto este presenta seis valencias en donde 4 establecen enlaces covalentes con sus anillos pirrólicos correspondientes, la quinta valencia se une a un nucleótido, la 5-6 dimetilbencimidazol y la sexta se une a radicales diferentes originando los diferentes derivados de la cobalamina.



Cianocobalamina hidoxicobalamina, metilcobalamina y desoxiadenosilcobalamina.

Las formas que actúan como coenzimas en los seres humanos son la metil y desoxiadenosilcobalamina esta es conocida también como coenzima B12.

### **DERIVADOS DE LA COBALAMINA.**

- Radical CN (ciano) - su nombre Cianocobalamina.
- OH (Hidroxilo) – Hidroxicobalamina.
- CH<sub>3</sub> (metilo) – Metilcobalamina.
- 5' desoxiadenosil – desoxiadeosilcobalamina.

### **FISIOLOGÍA DE LA ABSORCIÓN DE LA VITAMINA B12**

La vitamina B12 en nuestro organismo la adquiere a través de los alimentos por medio de dos vías de absorción para la cobalamina entre ellas tenemos la que se asocia al factor intrínseco esta conlleva un proceso activo que se da en el estómago en buen estado, como el de enzimas pancreáticas y un íleon terminal normal, la vitamina B12 es adquirida de las proteínas animales, en nuestro estómago por acción de la pepsina y el ácido clorhídrico la vitamina queda libre para unirse a la proteína (R) la cual se encuentra secretada por las células parietales del estómago y en pocas cantidades por las glándulas salivales, segregando el factor extrínseco por el estómago que es fundamental para la absorción de la vitamina B12, en el duodeno hay enzimas que favorecen la ruptura del complejo Vitamina B12 – proteína (R) y la unión la vitamina B12 al factor intrínseco.

La vitamina B12 se absorbe a través de endocitosis en las células del íleon terminal donde los enterocitos con unos receptores específicos como (cubilin) para el complejo constituido por el factor intrínseco de la vitamina B12.

Una vez que se absorbe la vitamina se encuentra ya dentro de los vasos sanguíneos, entonces la cobalamina junto con las transcobalaminas que son proteínas plasmática hacen su recorrido. La haptocorrina tipo I o también llamada halotranscobalamina o vitamina B12 activa, por su capacidad para entrar a las células, es la más importante porque se encargada transportar el 80% de la vitamina B12 que se encuentra circulante en nuestro organismo y la tipo II se une a la vitamina restante del 20% que llegan a las células medula ósea y a las células hepáticas donde quedan almacenadas.

## **METABOLISMO DE LA VITAMINA B12**

En el cuerpo humano tenemos dos reacciones metabólicas importantes en donde necesitamos de la vitamina B12 como cofactor.

Tenemos la primera que sucede en las mitocondrias de las células durante el catabolismo de los ácidos grasos con un número impar de átomos de carbono y de los aminoácidos valina, isoleucina y treonina, el propionil-CoA resultante se convierte a succinil-CoA para la oxidación el ciclo de los ácidos tricarbóxicos o también llamado ciclo de Krebs.

La segunda sucede en el citosol de la célula, en este transcurso la vitamina B12 cataliza la conversión de homosisteína convirtiéndola en metionina mediante la acción de la enzima metionina sintasa. Dando lugar a la transferencia del grupo metilo de N- metiltetrahydrofolato o hidroxilcobalamina generando el tetrahydrofolato y la metilcobalamina mediante el proceso de conversión.

## **FUNCIONES DE LA VITAMINA B12**

- Intervienen en las síntesis de la DNA, ARN y proteínas
- Interviene en la formación de los glóbulos rojos
- Es muy importante en la proliferación, maduración y regeneración de las células nerviosas.
- Participa en las síntesis de los neurotransmisores y en el mantenimiento de la vaina de las neuronas
- Actúa en la transformación de los ácidos grasos en energía ayudando a mantener la reserva energética de los músculos.
- Interviene en el buen funcionamiento del sistema inmune
- Es muy esencial para el metabolismo del ácido fólico.

## **CAUSAS DEL DÉFICIT DE LA VITAMINA B12**

- Por deficiencia nutricional
- Síndromes metabólicos
- Causas gastrointestinales
- Según la fase de absorción y factores del metabolismo de la vitamina B12.

## **CONSECUENCIAS DEL DÉFICIT DE VITAMINA B12**

Las alteraciones que ocasionan el déficit de vitamina b12 son:

- Alteraciones hematológicas, y neuropsiquiátricas, según Lechner aunque la prevalencia del déficit de vitamina B12 es frecuente, tan solo del 5-10% de los pacientes son sintomáticos. (19)

**ENTRE LAS PRINCIPALES MANIFESTACIONES CLÍNICAS TENEMOS:**

**LEVES**

- Neuropatías sensoriales
- Macrocitosis
- Hipersegmentación de los neutrófilos

**GRAVES**

- Esclerosis combinada de la medula espinal.
- Anemia hemolítica.
- Pancitopenia.

**2.2.4 MANIFESTACIONES HEMATOLÓGICAS**

Entre las principales manifestaciones hematológicas tenemos:

**COMUNES COMO:**

- Macrocitosis
- Hipersegmentación de los neutrófilos.
- Anemia megaloblastica

**RARAS COMO:**

- Trombocitopenia y neutropenia aislada.
- Pancitopenia

## **INFRECIENTES COMO:**

- Anemia hemolítica
- Microangiopatía pseudotrombótica. (20)

### **2.2.5 VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL ALCOHOLISMO**

El alcoholismo es una de las causas principales que se asocia a la macrocitosis, también se encuentra asociado con otras alteraciones como la desnutrición y la enfermedad hepática concomitante, en donde la anemia es un pronóstico adverso en pacientes con enfermedad hepática con alto consumo de alcohol conllevando así a la mayor mortalidad, la anemia megaloblástica está fuertemente ligada al alcoholismo y a la deficiencia de vitamina B12 ya que esta se considera como una de las vitaminas más importantes en su grupo ya que es muy esencial para nuestro metabolismo esta ayuda a quemar calorías y a la producción de energía, es importante para el crecimiento y desarrollo de los tejidos, por lo que con el consumo de alcohol, esta vitamina pierde la capacidad de producir glóbulos rojos, y es causante de alteraciones hematológicas, neurológicas, neurocognitivas y neuropsiquiátricas.

### **2.2.6 PATOLOGÍAS ASOCIADAS AL ALCOHOLISMO**

**OSTEOPOROSIS.-** Es una de las enfermedades más llamativas por consumo exagerado de alcohol, enfermedad que se caracteriza por adelgazamiento de los huesos estos se vuelven más frágiles pero es más común en mujeres que en hombres, el uso excesivo de alcohol provoca disminución de las vitaminas que son esenciales para tener unos huesos sanos.

**ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES.-** El consumo de alcohol provoca el surgimiento de coágulos de sangre causando así que los pacientes sufran ataques cardíacos o derrames cerebrales.

**MIOCARDIOPATÍA.-** Esta enfermedad se caracteriza por que el musculo cardiaco se ve afectado de manera que este pierde la capacidad de bombear la sangre al corazón es por eso que es recomendable dejar de consumir alcohol ya que este es un factor importante en esta enfermedad ya que el consumo de alcohol.

**PANCREATITIS.-** inflamación del páncreas que es similar a la cirrosis el páncreas es cubierto de fibrosis lo que dificulta la producción de insulina y la forma en que el azúcar se libera al torrente sanguíneo, los son, dolor abdominal severo acompañado de vómito o nauseas, sudoración y fiebre.

**HIPERTENSIÓN.-** Se la determina más como una condición que una enfermedad se caracteriza por que la sangre al pasar a través de las arterias causa un daño en las arterias ocasionando derrame cerebral, enfermedades del corazón, ataque cardíaco, edema pulmonar y aneurisma por hipertensión. Los valores que se caracterizan en factor de riesgo de la presión sanguínea son una presión sistólica sostenida por encima de 139 mmHg con una presión diastólica entre o mayor a 89 mmHg, se puede deducir que el paciente tiene un alto riesgo de sufrir de arterosclerosis, debido que el alcohol impide el normal flujo sanguíneo , la hipertensión no es una enfermedad no se cura pero si se la puede controlar entonces el paciente deberá seguir las recomendaciones del médico ya que entre tantas recomendaciones esta dejar de consumir sustancias como el alcohol, tabaco, café, evitar el sedentarismo, bajar de peso y seguir una dieta balanceada para evitar recaídas.

**HÍGADO GRASO.-** Esta enfermedad se la conoce como esteatosis hepática, se caracteriza por el aumento de grasa en el hígado porque este pierde la capacidad de quemar grasas ya que el consumo de alcohol como es un carbohidrato es primero en metabolizarse en el hígado, causando así la disminución del apetito, náuseas, vómitos, dolor abdominal, la piel tiende a tomar un color amarillento lo mismo sucede con la esclerótica de los ojos. Así que lo recomendable es no consumir alcohol, hacer ejercicio y alimentarse balanceadamente es importante para controlar el hígado graso mas no curarlo.

**CIRROSIS HEPÁTICA.-** La cirrosis hepática es la consecuencia de diferentes enfermedades crónicas, el alcohol actúa dañando las células del hígado, debilitándolo, ya que tejido sano es reemplazado por fibrosis debido a que este tejido se acumula e impide que el hígado funcione correctamente lo que puede reducir la acumulación de bilis en la sangre, la coagulación disminuye y por ende la presión arterial, algunos síntomas de esta enfermedad son falta de apetito, náuseas, fatiga, ictericia, trastornos cognitivos, temblores hemorragia interna hasta desencadenar un coma y posteriormente la muerte.

**CÁNCER.-** El consumo exagerado de alcohol aumenta las probabilidades de que las personas tengan cáncer, ya que el organismo empieza a formar el alcohol en acetaldehído siendo este un potente cancerígeno, los tipos de cáncer que ocasiona el consumo de alcohol es cáncer de boca, faringe, laringe, esófago y hígado. (21)

## **PATOLOGÍAS HEMATOLÓGICAS ASOCIADAS AL ALCOHOLISMO**

**ANEMIA.-** Es la disminución de la masa eritrocitarios, o también se lo puede definir como la disminución de volumen de los hematíes medido en le hemograma mediante el número de hematíes, el hematocrito y la concentración de hemoglobina.

**ANEMIA MICROCÍTICA.-** Son aquellas en las que el tamaño del hematíe se encuentra reducido con una disminución en la cantidad de hemoglobina debido a que esta se encuentra constituida de hierro, cadenas de globina y pigmento hem, la causa , más frecuente de microcitosis es la ferropenia , pero en anemias ya crónicas.

**ANEMIA MACROCITICA.-** La mayoría de las anemias macrocítica son megaloblástica, ya que se caracteriza por presentar un gran tamaño en los eritrocitos

### **ANEMIA POR DEFICIENCIA DE FOLATO**

Es la causa más común de anemia megaloblástica.

### **METABOLISMO DEL FOLATO Y SU DEFICIENCIA**

El ácido fólico también denominado pteroil monoglutámica, es una forma inactiva que precisa activar por la acción de las folatos reductasas, organismos para transformarse en la forma activa, también denominado ácido tetrahidrofólico o ácido folínico.

El ácido fólico no solo aparece en los productos cárnicos sino también en verduras, legumbres, levaduras y frutos secos.

Se absorbe fundamentalmente en el yeyuno y se deposita en el hígado, las reservas de folato hepáticas son útiles solamente para tres o cuatro meses, a diferencia de la vitamina B12 que pueden tardarse desde tres a seis años en agotarse.



## **CLÍNICA DE LA DEFICIENCIA FOLATO**

La misma que la deficiencia de cobalamina sin trastornos neurológicos ya que el ácido fólico no es necesario para la síntesis de la mielina.

## **ESTUDIO DE ANEMIA MACROCÍTICA**

La anemia megaloblástica se puede ver asociada con otros factores ocasiona una macrocitosis, entre estos tenemos, síndromes mielodisplásicos, la aplasia, hipotiroidismo.

Es por eso que es necesario realizar el estudio de la extensión de sangre periférica, en donde podemos encontrar datos subjetivos como la hipersegmentación de los neutrófilos y macrocitosis características en anemia megaloblástica.

También determinaremos niveles séricos de vitamina B12 y ácido fólico, y para más especificidad de resultados se recomienda un aspirado de la médula ósea.

## **ANEMIA POR DEFICIENCIA DE VITAMINA B12**

La vitamina B12 o también llamada cobalamina o cianocobalamina por tener cobalto en su molécula aparece en alimentos de origen animal.

La vitamina B12 se almacena principalmente en el hígado y su nivel es tan elevado que la deficiencia tarda años en producirse.

Mediante la acción de los jugos gástricos se produce una liberación de la cobalamina de las proteínas del alimento.

La vitamina B12 se une a un factor intrínseco (elaborado por las células parietales gástricas) que va a transportar la vitamina B12 a lo largo del intestino delgado hasta el íleon terminal, donde, a partir de receptores específicos se produce la absorción de la vitamina B12 hacia el plasma.

En la sangre, la vitamina B12 está unida a transcobalamina la transcobalamina II es la principal proteína de transporte de la vitamina absorbida “de nuevo”, pero presenta una corta vida media, dicha transcobalamina es sintetizada en el hígado, la transcobalamina I esta sintetizada en los neutrófilos transporta la mayor parte de la vitamina B12 circulante como consecuencia de su mayor vida media. (22)

## **ETIOLOGIA**

**1.- Disminución de la ingesta:** dietas vegetarianas estrictas

**2.- Disminución de la absorción**

\_ Deficiencia de factor extrínseco: gastrectomía, anemia perniciosa, o enfermedad de Biermer.

\_ Alteración intestinal sobre todo en el íleon terminal.

\_ Infestación por bacterias o parásitos

\_ Deficiencia de receptores ileales para factores extrínsecos.

\_ Alteraciones pancreáticas

\_ Fármacos (anticonceptivos, alcohol colestiramina)

3.- **Alteración en la utilización:** inactivación de la vitamina B12, de almacén mediante el óxido nitroso de la anestesia.

La causa habitual de deficiencia de cobalamina es la anemia megaloblástica.

Cuando hay deficiencia de cobalamina la médula ósea y el sistema nervioso compiten entre sí para aprovechar la escasa vitamina.

Por ello característicamente las alteraciones neurológicas no siempre se presentan con alteraciones hematológicas e incluso los trastornos neurológicos más graves se suelen ver en enfermos con anemias poco importantes.

## **TRATAMIENTO**

Administración de vitamina B12 parenteral.

Se produce una respuesta reticulocitaria rápida del cuanto al quinto día. Es aconsejable la administración de ácido fólico, ya que la deficiencia de cobalamina ocasiona a su vez un déficit intracelular de folato. (23)

**ANEMIA MEGALOBLASTICAS.** La anemia megaloblástica es la que se presenta por una deficiencia de la vitamina B12, o de ácido fólico.

Son aquellas causadas por deficiencia de folatos o vitamina B12, alteran las síntesis del ADN ya que tanto el folato como la vitamina B12, participan en una reacción necesaria para la síntesis de ADN que consiste en la formación del timidilato a partir del urdilato.

A causa de la disminución de la velocidad de la síntesis del ADN se produce un retardo en la división celular y esta alteración provoca cambios morfológicos característicos de la anemias megaloblásticas, consistentes en un gran tamaño de

los precursores de las células sanguíneas en la médula ósea y en la sangre periférica, como el trastorno afecta también a otras series hematológicas es también frecuente la pancitopenia.

En la médula ósea de las anemias megaloblásticas además del crecimiento en el tamaño de los precursores hematopoyéticos, se produce un aumento de la población hematopoyética a consecuencia del retardo en la división celular.

También puede ocasionarse la destrucción intramedular de las células hematopoyéticas (situación de eritropoyesis ineficaz), la sangre periférica se caracteriza por hematíes de gran tamaño (macroovalocitos con un aumento del VCM y también HCM) neutrófilos hipersegmentados y reticulocitos no aumentados.

Entre las alteraciones bioquímicas es muy característico de las anemias megaloblásticas la elevación de LDH sérica al igual que en las hemólisis, como consecuencia de la destrucción de las células hematopoyéticas en la médula ósea (eritropoyesis ineficaz).

Una de las características más útiles en el diagnóstico de las anemias megaloblásticas es la presencia de los neutrófilos hipersegmentados. Pero estas alteraciones desaparecen cuando los pacientes han recibido un tratamiento.

## **ANEMIA MEGALOBLÁSTICA**

El estado megaloblástico se da mediante la síntesis defectuosa de ADN, mientras que el ARN continúa con su síntesis dando como resultado un aumento de la masa y la maduración citoplasmática, en esta circulación se recibe hematíes macroovalocíticos, en donde todas las células presentan displasia, esta se

caracteriza por que la maduración citoplasmática es mayor que la nuclear produciendo así el megaloblasto en la médula, la dispoiesis aumenta el deterioro intramedular de las células, eritropoyesis ineficaz causando hiperbilirrubinemia indirecta e hiperuricemia, debido a que afectan las líneas celulares produciendo la anemia megaloblástica, produce también reticulocitopenia debida a la producción defectuosa de hematíes, la hipersegmentación de los neutrófilos polimorfonucleares, la utilización deficitaria o defectuosa de vitamina B12 o ácido fólico. (24)

Es la enfermedad causada por deficiencia de vitamina B12, relacionada con la incapacidad del individuo de absorber cobalamina debido a la deficiencia de factor intrínseco por parte de las células parietales. El factor intrínseco se une avidamente a la vitamina B12 proveniente de la dieta, formando un complejo que es transportado hasta el íleon terminal, donde es absorbido después de la unión a receptores de factor intrínseco de la membrana luminal de las células ileales. Hay dos mecanismos que alteran la producción de factor intrínseco, el primero se debe a una pérdida de células parietales de la mucosa gástrica que lleva a la falla en la producción de factor intrínseco y el segundo debido a la presencia de autoanticuerpos bloqueantes en el jugo gástrico, que se pueden unir al sitio de unión de la vitamina B12 con el factor intrínseco, evitando así la formación de este complejo. La enfermedad comprende un amplio espectro de síntomas, entre los cuales se incluyen: síntomas constitucionales, alteraciones ginecológicas, neurológicas y gastrointestinales. (25)

La vitamina B12 se excreta en la bilis ligada a la haptocorrina (factor ligante R). Normalmente la mayoría de esta vitamina B12 se reabsorbe, las personas con un contenido total de 500ug tendrían una pérdida adicional de 0.05ug. En pacientes con anemia perniciosa u otros defectos de absorción de la vitamina B12 es probable que la circulación entero hepática está deteriorada, dando lugar a una mayor excreción fecal de la vitamina. (26).

## **ANEMIA PERNICIOSA**

La anemia perniciosa se desarrolla cuando el cuerpo no es capaz de absorber la vitamina B12 que necesita de los alimentos debido a la falta de una proteína, llamada factor intrínseco, producida por el estómago. Se requiere el factor intrínseco para la absorción de la vitamina B12. A menudo, la anemia perniciosa se relaciona con un ataque de origen autoinmunitario de las células parietales del estómago y/o el factor intrínseco. La anemia es la liberación insuficiente de oxígeno por parte de los glóbulos rojos de los pulmones a las células del cuerpo. Entre más pronto se trate la anemia perniciosa, mejor es el resultado.

## **DIAGNÓSTICO**

En el estudio de esta enfermedad se encuentra un hemograma con disminución del hematocrito y de la hemoglobina. Los hematíes se encuentran aumentados de tamaño (macrocitosis) y con aumento de la cantidad de hierro en ellos, siendo así hiperocrómicos. También puede haber leucopenia, neutrófilos hipersegmentados, el volumen corpuscular medio suele ser alto en estadios avanzados de la anemia, plaquetas bajas (plaquetopenia), y los reticulocitos suelen tender a la baja, aun cuando suelen ser normales. Cambios en la LDH aumentándola, hiperbilirrubinemia, vitamina B12 en sangre menor a los 100 pg/dl, y examen de Schilling para determinación de holotranscobalamina II, y medición del ácido metilmalónico. (27)

### **2.2.7 ESTUDIO DEL ERITROCITO**

Los eritrocitos provienen del griego “puopóc” que significa rojo y del latín “kútoc” que significa bolsa, o también eritro (rojo) + citos (células) son los elementos formes que se encuentran en mayor cantidad en nuestra sangre. Los eritrocitos tienen forma oval o bicóncavo aplanada y presenta una depresión en el centro que mide de 5-7.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, 1  $\mu\text{m}$  de grosor y de 80 a 100 fL de volumen, su citoplasma está compuesto por un pigmento llamado hemoglobina que es la sustancia que le da el color rojo al eritrocito y ayuda al transporte de oxígeno a las células y tejidos de todo nuestro cuerpo, gracias a su forma bicóncava se adapta a una mayor superficie de intercambio de oxígeno por dióxido de carbono en los tejidos y su membrana es tan flexible que permite a los glóbulos rojos atravesar por los capilares.

**HEMOGLOBINA.-** La hemoglobina es una proteína que contiene hierro, la cual le da el color característico a los glóbulos rojos, se encarga del transporte de oxígeno a través de la sangre desde los pulmones hacia todos los tejidos de todo el cuerpo.

### **PRODUCCIÓN DE LOS GLÓBULOS ROJOS**

Los glóbulos rojos se producen en la medula ósea, a partir de las células madre que se van reproduciendo rápidamente, la producción de los eritrocitos está regulada por la eritropoyetina esta es una hormona producida por el riñón, por eso cuando existe una disminución de la oxigenación de los tejidos la eritropoyetina aumenta su producción actuando en la medula ósea para estimular la producción de glóbulos rojos.

## **ETAPAS DEL DESARROLLO MORFOLÓGICO DE LA CÉLULA ERITROIDE**

- Célula madre pluripotencial
- Célula madre multipotencial
- Célula progenitora o CFU-S (unidad formadora de colonias del bazo)
- BFU-E (unidad formadora de brotes de eritrocitos)
- CFU-E (unidad formadora de colonias de eritrocitos), que luego formará los proeritroblastos.
- Proeritroblastos: Célula grande de citoplasma abundante, núcleo grande con cromatina gruesa, nucléolos no muy bien definidos (20-25 micras).
- Eritroblasto basófilo: Más pequeño que el anterior (16-18 micras), citoplasma basófilo, cromatina gruesa y grumosa, aquí se inicia la formación de la hemoglobina.
- Eritroblasto policromatófilo: Mide 10-12 micras, el citoplasma empieza a adquirir un color rosa por la presencia de hemoglobina, aquí se presenta la última fase mitótica para la formación de hematíes, no posee nucléolos y la relación núcleo/citoplasma es de 4:1.
- Eritroblasto ortocromático: Mide 8-10 micras, tiene cromatina compacta y el núcleo empieza a desaparecer.
- Reticulocito: Casi diferenciado en eritrocitos maduros. La presencia en SP (sangre periférica) representa el buen funcionamiento de la MO.
- Eritrocito, finalmente, cuando ya carece de núcleo y mitocondrias. Tiene capacidad de transporte de oxígeno.

A medida que la célula madura, la producción de hemoglobina aumenta, lo que genera un cambio en el color del citoplasma en las muestras de sangre teñidas con la tinción de Wright, de azul oscuro a gris rojo y rosáceo. El núcleo paulatinamente se vuelve picnótico, y es expulsado fuera de la célula en la etapa ortocromática.



La membrana del eritrocito es un complejo bilipídico–proteínico, el cual es importante para mantener la deformabilidad celular y la permeabilidad selectiva. Al envejecer la célula, la membrana se hace rígida, permeable y el eritrocito es destruido en el bazo. La vida media promedio del eritrocito normal es de 100 a 120 días.

La concentración eritrocitaria varía según el sexo, la edad y la ubicación geográfica. Se encuentran concentraciones más altas de eritrocitos en zonas de gran altitud, en varones y en recién nacidos. Las disminuciones por debajo del rango de referencia generan un estado patológico denominado anemia. Esta alteración provoca hipoxia tisular. El aumento de la concentración de eritrocitos (eritrocitosis) es menos común.

La hemólisis es la destrucción de los eritrocitos envejecidos y sucede en los macrófagos del bazo e hígado. Los elementos esenciales, globina y hierro, se conservan y vuelven a usarse. La fracción hemo de la molécula se cataboliza a bilirrubina y a biliverdina, y finalmente se excreta a través del tracto intestinal. La rotura del eritrocito a nivel intravascular libera hemoglobina directamente a la sangre, donde la molécula se disocia en dímeros  $\alpha$  y  $\beta$ , los cuales se unen a la proteína de transporte, haptoglobina. Esta transporta los dímeros al hígado, donde posteriormente son catabolizados a bilirrubina y se excretan.

## **FUNCIÓN DE LOS GLOBULOS ROJOS**

Como los eritrocitos se encargan del transporte de oxígeno que es necesario para producir energía en los diferentes tejidos entra al cuerpo humano a través de los pulmones atraviesa las membranas de los alveolos pulmonares y es captado por los glóbulos rojos unidos a la hemoglobina, para luego ser transportado por el

sistema circulatorio a los diferentes tejidos, el oxígeno es transportado a través de los capilares para llegar a las células, con lo que al mismo tiempo el CO<sub>2</sub> que producen las células es encerrado por la hemoglobina de los glóbulos rojos y transportado a los pulmones en donde es eliminado.

## **FACTORES PARA SU PRODUCCIÓN**

**VITAMINA B12.-** Es muy importante para la síntesis y multiplicación de los eritrocitos, ya que las células madre de la médula ósea deben multiplicarse muy rápidamente para la producción de los glóbulos rojos, la falta de vitamina B12 origina anemia megaloblástica.

**ÁCIDO FÓLICO.-** Es muy importante también por que ayuda a la síntesis de los glóbulos rojos y su deficiencia en la dieta ocasiona anemia.

**HIERRO.-** Al ser necesario para la producción de hemoglobina nuestro organismo contiene alrededor de 4-5 gramos de hierro, encontrando su mayor porcentaje en la hemoglobina que es contenida por los eritrocitos, en los hombres la cantidad de hierro es de 0.6 mg la misma que se elimina por las heces, en las mujeres las necesidades de hierro son el doble que las del hombre ya que las mujeres pierden la regla o menstruación. (28)

**Tabla N<sup>a</sup> 1: Valores de Referencia de los Eritrocitos**

<b>VALORES DE REFERENCIA NORMALES</b>	
<b>Recién nacido:</b>	4-5 millones/ MI
<b>A los tres meses</b>	2 a 4.8 millones/ mL
<b>Entre los 3 y 5 años</b>	4 a 5.3 millones/ mL
<b>De los 5 a 15 años</b>	4.2 a 5.2 millones/ mL
<b>Hombre adulto</b>	4.5 a 5 millones/ mL
<b>Mujer adulta</b>	4.2 a 5.2 millones/ mL

**Fuente:** Hematología Médica

## **2.2.8 ALTERACIONES DEL ERITROCITO**

- **ALTERACIONES DEL TAMAÑO**

**ANISOCITOSIS.-** Se caracterizan por que los eritrocitos presentan diferentes tamaños.

**MICROCITOSIS.-** Cuando los hematíes presentan un diámetro menor a 7  $\mu\text{m}$  y un volumen mayor a 100  $\mu\text{m}^3$  se producen en enfermedades como las talasemias, en anemias sideroblasticas, pero más característico es anemia ferropenia.

**MACROCITOSIS.-** El tamaño de los eritrocitos es mayor a  $8\ \mu\text{m}$  y un volumen mayor a  $100\ \mu\text{m}^3$ , se produce sobre todo en personas alcohólicas y en hepatopatías crónica.

**MEGALOCITOSIS.-** Los hematíes tienden a estar aumentados de tamaño es superior a  $11\ \mu\text{m}$ , y es muy característico de anemias megaloblásticas.

- **ALTERACIONES DE LA FORMA**

**POIQUILOCITOSIS.-** Se caracterizan por presentar una desigualdad en la forma de los eritrocitos.

**ACANTOCITOS.-** Se caracteriza por que los hematíes presentan espículas de longitud y posición irregular, estas alteraciones se producen en cirrosis hepáticas, mielofibrosis aguda y crónica.

**DIANOCITOS.-** Los hematíes se presentan planos y con una forma muy similar a un sombrero mexicano. Con un reborde coloreado y una zona anular pálida, se producen en talasemias y hepatopatías.

**DREPANOCITOS.-** se presentan en forma de hoz, característicos en anemias de células falciformes.

**ELIPTOCITOSIS.-** Los hematíes presentan una forma elíptica u oval, es característico en anemias ferropénica, anemia megaloblástica y en mielofibrosis pero es típica de la eliptocitosis hereditaria.

**EQUINOCITOSIS.-** También se los conoce con el nombre de estereocitos o astrocitos se presentan en forma de espículas cortas y distribuidas regularmente a lo largo de toda la superficie, se produce en la uremia y hepatopatías neonatales.

**ESFEROCITOSIS.-** Cuando los hematíes tienen la forma esférica pueden aparecer microesferocitos, se producen en la hidrocitosis, en la anemia inmuno hemolítica y sobre todo en las esferocitosis hereditarias.

**ESQUISTOCITOSIS.-** Los hematíes presentan fragmentaciones, presentes en anemia microangiopática, en la hemólisis mecánica por la presencia de una prótesis de una válvula en el corazón, y en quemaduras graves.

**ESTOMATOCITOSIS.-** Los hematíes presentan una invaginación central en forma de una boca, se producen en el alcoholismo y en las hepatopatías cónicas.

**EXCENTROCITOSIS.-** Consiste en encontrar hematíes cuya hemoglobina está concentrada en unos de sus polos, se producen en déficit de glucosa- 6- fosfato deshidrogenasa.

**KERATOCITOSIS.-** Consiste en encontrar hematíes con formas espiculadas en su superficie, se producen en anemias hemolíticas, microangiopatías, hemólisis por prótesis cardíacas.

- **ALTERACIONES DEL COLOR**

**ANISOCROMÍA.-** se puede observar la falta de uniformidad en la coloración de unos y otros hematíes, se presentan en el inicio de tratamientos de anemia carencial y en enfermos con anemia hipócroma.

**HIPOCROMÍA.-** Los hematíes se presentan pálidos y con un aumento de la claridad central, se producen en anemia ferropénica.

**HIPERCROMÍA.-** Los hematíes se pueden encontrar intensamente coloreados la hipercromía que se puede presentar en esferocitosis hereditaria.

**POLICROMASIA.-** Los hematíes suelen presentarse con una coloración ligeramente basofílica.

- **INCLUSIONES INTRAERITROCITARIAS**

**SUSTANCIAS GRANULOFILAMENTOSA.-** Llamada también como reticulocito filamentososa se origina de restos ribosómicos agregados, común en reticulocitos.

**CUERPO DE HOWELL-JOLLY.-** Se lo conoce como un pequeño residuo nuclear, se lo observa como un grumo visible en el interior de los hematíes y que se tiñe de un color que está entre rojo oscuro y el negro, aparecen en pacientes esplenectomizados.

**CUERPOS DE HEINZ.-** Son precipitados de la hemoglobina, presentan una serie de granulaciones pequeñas que se sitúan en la periferia de los hematíes, se producen en enfermedades congénitas que comportan una inestabilidad de la hemoglobina que hace que esta se desnaturalice y precipite en presencia de algunos medicamentos.

**CUERPO DE PAPPENHEIMER.**-gránulos sideróticos, estos son acumulaciones de hemosiderina unida a proteínas, consiste en gránulos basófilos, se producen en pacientes esplenectomizados y en anemias sideroblásticas.

**PUNTEADO BASÓFILO.**- Son agregados ribosómicos originados por una degeneración vacuolar del citoplasma o precipitados de cadenas globinas libres, presentan puntos basófilos, con tamaño variable y dispersos por toda la superficie del hematíe, se producen en intoxicaciones por plomo y también en talasemia y leucemia.

**ANILLOS DE CABOT.**- Estos están formados por restos de la membrana nuclear o de microtúbulos se presentan a manera de hilos basófilo adoptan una forma de un anillo o de un ocho y pueden ocupar toda la periferia célula, se pueden presentar en anemia megaloblástica y anemias hemolíticas.

**INCLUSIONES PARASITARIAS.**- se encuentran parásitos en los hematíes por distintas formas evolutivas como por ejemplo el plasmodium. (29) (30) (31)

## **2.2.9 ESTUDIO DE PLACA O EXTENSIÓN SANGUINEA**

### **FASES DEL EXTENDIDO SANGUÍNEO**

La información obtenida de un frotis de sangre periférica dependerá mucho de la calidad del extendido, tiene mucha importancia ya que el diagnóstico de muchas enfermedades hematológicas se pueden observar de acuerdo a las características morfológicas de las células sanguíneas.

Cada vez que realizamos un frotis sanguíneo debemos hacerlo de una manera suave tratando que no nos quede ni muy grueso ni muy delgado para que así la

distribución de las células serán más fáciles de observar en diferentes áreas, mirando claramente su tamaño forma y color en los eritrocitos.

El material que se va a utilizar debe estar completamente limpio y libre de grasa, y realizarlo en lo posible dentro de las dos primeras horas de práctica.

Una extensión sanguínea correcta debe contener cabeza, cuerpo y cola. La zona ideal para realizar la observación está entre la cola y el cuerpo. (32)

**Cabeza:** en esta fase se coloca la sangre para proceder al extendido es por eso que se tiene gran concentración de eritrocitos, en la cual no es aconsejable realizar la observación.

**Cuerpo:** Es la parte media del el frotis sanguíneo esta es la parte ideal para proceder la observación, ya que los glóbulos rojos y las plaquetas no se encuentran aglutinados ni esparcidos.

**Cola:** Esta es la zona final del frotis la cual se encuentra diluida, y la morfología de las células se encuentran alteradas encontrándolas esparcidas, también encontraremos una gran concentración de plaquetas. (33) (34)

### **Frotis sanguíneo**

Frotis de sangre o frotis de sangre periférica es un análisis de sangre en donde se puede medir el número y forma de las células sanguíneas, el frotis sanguíneo es un elemento muy importante para la ayuda diagnóstica el cual debe ser realizado con mucha responsabilidad y profesionalismo, ya que si el médico lo solicita es porque sospecha de alguna anormalidad, en el conteo celular detectados en analizadores hematológicos, y por qué el paciente presenta esplenomegalia o adenopatías. El médico solicita el estudio de la placa para que le puedan ayudar a diagnósticos tales como síndrome mielodisplásico, leucemia, linfoma o anemia hemolítica, es por eso que el frotis sanguíneo sigue siendo una herramienta importante para ayudar al diagnóstico médico.



## **Análisis de placa hematológica**

El médico solicita el estudio de la placa cuando existen hallazgos sugestivos de anemia, ictericia inexplicada, dolor abdominal, dolor torácico o dolores en los miembros, infecciones severas inexplicadas, sospecha de coagulación intravascular diseminada, insuficiencia renal aguda, o agradecimiento de los riñones sobre todo en los niños, en hemorragias, exudados o signos de hiperviscosidad o atrofia óptica en el fondo del ojo, cuando sospecha de enfermedades bacterianas o parasitarias, en hallazgos sugestivos de cáncer no hematopoyético entre estas pérdida de peso, malestar y dolor óseo, fiebres inexplicables, enfermedades virales, inflamatorias o malignas. A veces el estudio del frotis logra un diagnóstico definitivo, por eso debemos realizarlo con mucho profesionalismo, el mayor reto del estudio de la placa es para proveer al médico de buena información y así llegar a un buen diagnóstico en lo que sea pertinente la opinión médica como eanemias y trombocitopenias así como en la caracterización de los Linfomas y Leucemias. (35) (36)

### **2.3 HIPÓTESIS**

**Hi:** Los valores bajos de Vitamina B12 se relacionan con las alteraciones morfológicas en células rojas en pacientes alcohólicos.

**Ho:** Los valores bajos de Vitamina B12 no se relacionan con las alteraciones morfológicas en células rojas en pacientes alcohólicos.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA**

#### **3.1 NIVELES DE INVESTIGACIÓN**

El enfoque que tome en cuenta en mi investigación es cuantitativo y cualitativo.

**Cualitativo:** Porque al visitar a los pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATAACUNGA”, se interactuó con ellos y se pudo como ser de más cerca la realidad.

**Cuantitativo:** Porque se realizó la determinación de vitamina B12, y sus resultados me ayudaron a comprobar hipótesis, lo cual nos indicó que el consumo excesivo de alcohol ocasiona deficiencia de vitamina B12 y por ende polimorfismo en las células rojas.

**Descriptivo:** Porque la investigación permitirá detallar las características más importantes del objeto de estudio, es decir las causas y efectos que pueden producir dentro del problema planteado y confrontando que los pacientes pueden contraer anemia megaloblástica por déficit de Vitamina B12, encaminado al polimorfismo en células rojas.

**Asociación de variables:** Este nivel me permitirá evaluar cada una de las relaciones que existen entre la variable independiente como lo es “Determinación de Vitamina B12” y la variable dependiente siendo esta “Polimorfismo en Células Rojas”.

**Nivel de Laboratorio.-** Se utilizó la modalidad de laboratorio ya que se realizó los diferentes exámenes competentes a este ámbito para así cumplir con los objetivos propuestos en mi proyecto de investigación.

**Nivel Exploratorio.-** Porque permitirá tener un contacto directo con la realidad y conocer más de cerca los factores que generan el problema reconociendo las variables de interés investigativo, además se buscará una situación que no ha sido investigada en el Movimiento Internacional de Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”.

**Investigación de campo.-** porque se pudo compartir las problemáticas y las realidades que viven los pacientes que acuden al Movimiento Internacional de Alcohólicos Anónimos 24 horas “Grupo Latacunga”, lo cual ayudo a recolectar información requerida para la realización del presente proyecto.

### **3.2 SELECCIÓN DEL ÁREA O AMBITO DE ESTUDIO**

La investigación de este proyecto se realizó en el Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, ubicado en la ciudad de Latacunga ciudadela el chofer, luego de haber tenido una reunión con el encargado del Movimiento el Sr. Wilson Romero designado como padrino del mismo, donde me supo detallar que al centro acuden 100 personas entre ellas hombres y mujeres jóvenes adolescentes, adultos mayores entre estos profesionales, me supo manifestar que en el centro no existe ningún tratamiento farmacológico para nadie los pacientes acuden al centro voluntariamente y su única terapia consiste en dar charlas de motivación haciendo que los pacientes se concienticen y se hagan de ellos un auto diagnóstico y así se den cuenta por si solos del daño que están causando a su salud con el consumo excesivo de alcohol.

Manifestó que existe una red llamada Movimiento Internacional con la cuales ellos trabajan solo con el fin de ayudar a las personas con problemas de alcoholismo sin obligarlos a nada.

El centro está conformado por 100 pacientes entre estas 30 mujeres y 70 hombres. Tomando en cuenta a pacientes que acuden diariamente al centro e incluso viven en el movimiento, a los cuales se les dio la información oportuna antes de realizar ningún procedimiento, también se les explico sobre el conocimiento informado ya que tienen todo el derecho de desistir en la participación de mi estudio, trabaje con los pacientes que acuden diariamente y los que viven en el Movimiento los cuales acudieron a mi llamado y aceptaron someterse a mi estudio, también a responder algunas presuntas que hice con el fin de reunir datos para el cumplimiento de mi cuarto capítulo preguntas como cuantos años tienen y el tiempo en que acuden al Movimiento, a todos los que voluntariamente decidieron ayudarme, procedí a tomar las muestras sanguíneas con las respectivas normas de bioseguridad y a transportarlos inmediatamente a procesarlos en el Laboratorio Clínico “ALVAREZ” ubicado en la calle García Moreno y 24 de Mayo junto al Banco del Pichincha en ciudad de Salcedo.

### **3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA**

**Población.-** La población considerada para el presente proyecto está conformado por todos los pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, el cual cuenta con un numero de 100 pacientes que por el costo del examen y la disponibilidad de los pacientes me veo en la necesidad de tomar una muestra.

**Muestra.-** Debido a que cuento con una población muy numerosa en su totalidad son 100 pacientes, he tomado una muestra de 40 pacientes son completamente fijos ya que debido a la libertad que tienen no se les pudo obligar a que se sometan todos a mi estudio para la realización de mi proyecto.

### **3.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

#### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

1. Pacientes que aceptaron realizar la encuesta.
2. Pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”.
3. Pacientes que viven en el Movimiento.
4. Pacientes que voluntariamente decidieron someterse a mi estudio.

#### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

1. Pacientes que no realizaron la encuesta.
2. Pacientes que no acudan frecuentemente al Movimiento.
3. Pacientes que raramente acuden al centro.
4. Pacientes que no quisieron realizarse ningún tipo de procedimiento.

### **3.5 DISEÑO MUESTRAL**

Para cumplir con el desarrollo de mi investigación utilice el muestreo probabilístico regulado, el alcoholismo de hoy en día es uno de los problemas sociales bastante grande me he permitido tomar en cuenta a los pacientes con antecedentes alcohólicos en donde se mostrara presente el problema de mi

investigación, una vez ya contando con la colaboración de los pacientes que decidieron ayudarme voluntariamente, respondieron a mis preguntas sin exaltarse, pero sin otorgar ninguna firma los cuales en su totalidad suman 40 pacientes dispuestos a realizarse las pruebas.

### 3.6 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 3.6.1 VARIABLE INDEPENDIENTE: Determinación de Vitamina B12

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIAS	INDICADORES	ÍTEMS BÁSICOS	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p>Vitamina B12 es una coenzima que contribuye en la elaboración de ADN y la formación de los eritrocitos. En la deficiencia de vitamina B12 los hallazgos clínicos y de laboratorio incluyen anomalías neurológicas, aumento en la excreción del ácido metilmalónico y anemia macrocítica caracterizada por la maduración megaloblástica anormal de los precursores eritrocitarios de la médula ósea.</p> <p>El organismo utiliza los depósitos de vitamina B12 muy económicamente, reabsorbiendo la vitamina B12 del íleon y regresando al hígado donde es excretado muy poco.</p>	<p><b>Importancia de la vitamina B12</b></p> <p><b>Deficiencia de la vitamina B12</b></p> <p><b>Métodos</b></p> <p><b>Quimioluminiscencia.</b></p>	<p>Es importante para la síntesis de ADN. Ayuda a la formación de glóbulos rojos.</p> <p>Valores de vitamina B12 &lt; 110 pg/dL</p> <p>Determinación de Vitamina B12: Sus valores normales 110 - 835 pg/dL</p>	<p>¿Porque es importante la vitamina B12 en el cuerpo humano?</p> <p>¿Cuáles son los valores de vitamina B12 que presentan los pacientes con antecedentes alcohólicos?</p>	<p>Entrevista</p> <p>Análisis, observación y resultados del laboratorio.</p>



### 3.6.2 VARIABLE DEPENDIENTE: Polimorfismo en células rojas

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORIAS	INDICADORES	ÍTEMS BÁSICOS	TÉCNICAS INSTRUMENTOS	E
<p>Polimorfismo en células rojas, la palabra polimorfismo viene del prefijo “poli” significa muchos, del sustantivo “morfo” que significa formas y del sufijo “ismo” que significa actividad. Entonces se lo puede definir cuando los glóbulos son capaces de adoptar distintas formas sin que se modifique su estructura natural, característica en pacientes alcohólicos con anemia megaloblástica ocasionado por un déficit de vitamina B12.</p>	<p><b>Pacientes alcohólicos</b></p> <p><b>Alimentación</b></p> <p><b>Anemia megaloblástica</b></p>	<p>Consumo excesivo de alcohol</p> <p>Déficit Vitamínico</p> <p>Estudio morfológico de las células rojas o hematies mediante estudio de placa e hipersegmentación de los neutrófilos.</p>	<p>¿Los problemas familiares, económicos y sociales son un vínculo para el alcoholismo?</p> <p>¿La mala alimentación es causante de anemia megaloblástica?</p> <p>¿Cuáles son las patologías celulares que encontramos en anemia megaloblástica causada por un déficit de Vitamina B12?</p>	<p>Entrevista</p> <p>Análisis, observación y resultados de laboratorio</p>	

Elaborado por: Investigadora

### **3.7 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.**

#### **DESCRIPCIÓN DE PROCEDIMIENTOS, MÉTODOS Y TÉCNICAS**

Se procedió de la siguiente manera:

- Tomar las muestras sanguíneas entre las 8: 00 – 9:00 de la mañana explicando anteriormente que los pacientes deben acudir en ayunas.
- Todos los pacientes se reunieron a la hora establecida se procedió a la toma de las muestras, y fueron transportadas de inmediato al laboratorio Clínico “ALVAREZ” que es donde realice los análisis este se encuentra ubicado en la ciudad de Salcedo.
- Una vez ya procesadas las muestras, se obtuvo cada uno de los resultados, la Vitamina B12 la cual se determinó con el método de Inmunoensayo Enzimático Competitivo utilizando el equipo ESTAT FAX 7.400, y el reactivo de la casa comercial **MONOBIND Inc.**
- Se realizó el extendido de la sangre total o también llamado frotis sanguíneo para evaluar la forma de las diferentes células rojas o hematíes y la hipersegmentación de los neutrófilos los cuales fueron evaluados y observados también por mi tutora Dr. Mg. Tatiana Escobar en el laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato.
- Al finalizar se anotaron cada uno de los resultados para posteriormente sean interpretados correctamente y así poder realizar la estadística correspondiente
- Se analizaron y tabularon los resultados utilizando el programa Excel y el paquete estadístico para ciencias sociales SPSS (Statistical Package for Social Sciences).
- Se establecieron las conclusiones de la investigación.

## **ANALISIS DE MUESTRAS SANGUINEAS**

Se obtuvo la muestra sanguínea con la técnica de punción venosa, y las adecuadas normas de bioseguridad, las muestras fueron colocadas en tubos uno de color lila con anticoagulante EDTA para la realización del frotis sanguíneo y su posterior estudio y en tubos rojos estos sin anticoagulante, que me servira para realizar la determinación de vitamina B12.

## **MATERIALES Y EQUIPOS**

### **Normas de bioseguridad**

- ❖ Mandil
- ❖ Guantes
- ❖ Gorro
- ❖ Mascarilla
- ❖ Zapatos

### **Materiales utilizados en la obtención de la muestra**

- ❖ Tubos de ensayo al vacío, tapa roja y tapa lila
- ❖ Gradillas
- ❖ Torundas de algodón
- ❖ Alcohol antiséptico
- ❖ Torniquete
- ❖ Curitas
- ❖ Jeringas de 10mL
- ❖ Recipiente para desechar objetos corto punzantes
- ❖ Recipiente para desechar desechos infecto contagiosos

- ❖ Fundas rojas
- ❖ Deros y marcadores
- ❖ Transportador para muestras

### **Equipos de laboratorio**

- ❖ Centrífuga
- ❖ Baño maría
- ❖ Microscopio
- ❖ Homogenizador

### **Materiales de laboratorio**

- ❖ Placas porta y cubre objetos
- ❖ Tubos de ensayo estériles
- ❖ Gradillas
- ❖ Pipetas

### **Reactivos**

- ❖ Para la determinación de vitamina B12
- ❖ Reactivo de Wright para el frotis sanguíneo
- ❖ Aceite de inmersión

## **MÉTODOS**

### **Procedimientos para la venopunción**

- Preparar todos los materiales que se van a utilizar
- Verificar los datos del paciente
- Coificar cada uno de los tubos
- Colocar al paciente lo mas comodo posible

- Preguntar si el paciente se encuentra en ayunas
- Explicar al paciente lo que se le va a realizar mediante la aceptación de un consentimiento informado
- Ubicar la vena de punción
- Colocar el torniquete y desinfectar el lugar de la punción y mientras ya fluya sangre a la jeringa quitar el torniquete y extraer la cantidad suficiente.
- Una vez que se ha recogido la muestra de sangre, se retira la aguja y se cubre el sitio de punción para detener cualquier sangrado.
- Colocar el los tubos cuidadosamente por las paredes evitando que estos se hemolice.
- Preguntar al paciente si se encuentra bien y posteriormente colocarle una curita en la zona de punción .
- Desechar los materiales utilizados en los respectivos recipientes

Una vez obtenida la muestra sanguínea se procedió al transporte inmediato para realizar centrifugación y así obtener la muestra el suero para su posterior análisis, mientras se realiza la separación de los sueros, los tubos de tapa lila deben estar en constante agitación para realizar los respectivos extendidos de sangre o frotis sanguíneo .

## **PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO**

### **Técnica para realizar el frotis sanguíneo**

- Una vez que la muestra este bien homogenizada procedemos a realizar el frotis sanguíneo.
- Codificar correctamente la placa para evitar confusiones.
- Depositar una gota o 50ml de sangre total en la parte superior de la placa porta objetos.

- Inmediatamente impidiendo que esta se seque coger un cubreobjetos y proceder hacer el extendido verificando que este tenga cabeza, cuerpo y cola.
- Dejar que este se seque completamente.
- Luego colocarlo en una superficie plana y colocar el reactivo de Wright hasta que la placa quede completamente tapada con el reactivo.
- Dejar actuar el reactivo de Wright durante 7 minutos.
- Luego colocar agua destilada y soplar suavemente evitando que esta se derrame y dejar actuar 2 minutos
- Lavar la placa con un chorro de agua pequeño para evitar que este se dañe.
- Limpiar la parte en donde no se encuentra el extendido para así tener una mejor observación.
- Dejar secar bien el frotis y agregar una gota de aceite de inmersión en la parte inferior del frotis es decir en la cola y dejar que este se expanda hacia toda la placa.
- Observar al microscopio con el lente de 100 x y anotar los resultados correspondientes.
- Cabe recalcar que el reactivo utilizado para este procedimiento es de la casa comercial **TECNOLAB WRIGHT**.

### **Con el reactivo de Wright y Microscopio**

- Procedí a colorear la extensión sanguínea (frotis) la placa completamente seca y posteriormente al estudio morfológico de las células rojas o hematias, observados con el microscopio de marca BOECO GERMANY.

## **Técnica para realizar la determinación de vitamina B12 de la casa comercial MONOBINDInc.**

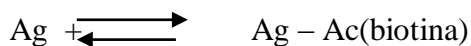
Determinación cuantitativa de la concentración de vitamina B12 e suero humano mediante un inmunoensayo enzimático e microplaca.

### **Principio**

#### **Inmunoensayo Enzimático Competitivo Retardado (tipo 9)**

Los reactivos esenciales requeridos para un inmunoensayo enzimático incluyen anticuerpo, conjugado enzima- antígeno y antígeno nativo.

Después de marcar el anticuerpo marcado con biotina con un suero que contiene el antígeno, da como resultado una reacción del antígeno y el anticuerpo.

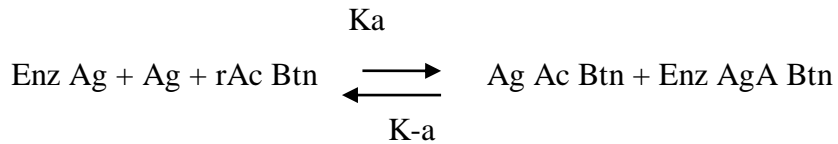


Ac.- Anticuerpo marcado con biotina

Ag = Antígeno (cantidad variable)

Ag Ac = complejo inmune

Después de una incubación corta la enzima combinada es adicionada (esta adición retrasada permite un incremento en sensibilidad para las muestras con una baja concentración). Aunque la adicción del conjugado de la enzima resulta e una reacción de competición entre la enzima análoga y el antígeno en la muestra por un número limitado de sitios de unión de anticuerpos (no consumidos en la primera incubación).



Enz Ag = conjugado enzima – antígeno (cantidad constante)

Enz AgAcBtn= complejo anticuerpo – conjugado enzima antígeno

rACbtn= anticuerpo marcado con biotina que no reacciona en la primera incubación.

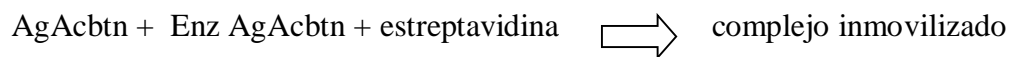
K a= tasa constante de asociación

K – a = tasa constante de disociación

K = K a/K-a = constante de equilibrio

Ocurre una reacción simultanea entre la biotina adherida al anticuerpo y la estreptavidina inmoviliza sobre el micropozo.

Esto efectúa de la fracción unida al anticuerpo después de decantación o aspiración.



Estreptavidina = estreptavidina inmovilizada en el pozo.

Complejo inmovilizado = complejo de sándwich unido a la superficie sólida.

La actividad de la enzima es la fracción unida al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración del antígeno nativo.

Mediante el uso de varios sueros de referencia con concentración de antígeno conocida, se puede generar una curva de respuesta de dosis de la cual se puede hallar la concentración del antígeno desconocida.



## **REACTIVOS**

### **MATERIALES SUMINISTRADOS**

#### **A.- calibradores de vitamina B12 1 ml/vial – iconos A.F**

Encontramos en la presentación 6 Viales de albumina humana de referencia para vitamina B12 en concentraciones de 0 (A), 100 (B), 200 (C), 400 (D), 1000 (E) Y 2000 (F) en pg/mL Almacenar de 2-8°C.un preservante ha sido adicionado. Los calibradores pueden ser expresados en concentraciones molar p M/L multiplicados por 0,738 por ejemplo:  $100 \text{ pg/mL} * 0,738 = 73,8 \text{ p M/L}$ .

#### **B.- Reactivo de enzima vitamina B12 – 6,0 ml/vial**

Un vial de vitamina B12 (análoga) – peroxidasa de rábano (HRP) en una matriz proteica estabilizada. Almacenar de 2 – 8°C.

#### **C.- Reactivo vitamina B12 Biotina - 6,0 ml – Icono**

Una botella de reactivo que contiene conjugado IgG de conejo purificado biotinilado anti- vitamina B12 en Búfer colorante azul y conservante. Almacenar de 2- 8°C.

#### **D.- Placa revestida con estreptavidina 96 pozos - icono**

Una microplaca de 96 pozos recubiertos con 1,0 ug/ml estreptavidina y empacada en una bolsa de aluminio con un agente desecante. Almacenar de 2-8°C.

**E.- Solución de lavado concentrado – 20 ml – icono**

Un vial que contiene un surfactante en búfer de solución salina, un preservante ha sido adicionado. Almacenar de 2-8°C.

**F.- Reactivo –sustrato 12ml/vial – icono.**

Un vial con contenido de tetrametilbencidina (TMB9) y peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en Búfer. Almacenar de 2-8 °C.

**G.- Solución de parada de la reacción 8 ml/vial – icono**

Un vial que contiene un ácido fuerte (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Almacenar de 2 – 30°C

**H.- Agente de liberación – 12ml/vial Icono**

Un vial que contiene una base fuerte (hidróxido de sodio) y cianuro de potasio.

**I.- Agente estabilizante - icono**

Un vial que contiene solución ditioneitol (DTT)

**J.- Búfer de neutralización - 7 ml /vial**

Un vial que contiene Búfer que reduce el pH de la extracción de la muestra.

**Nota:**

- No usar reactivos más allá de la fecha de expiración
- Evite la exposición prolongada al calor y a la luz
- Los reactivos abiertos son estables por sesenta días cuando son almacenados de 2-8°C la estabilidad del kit y sus componentes están identificados en la etiqueta.
- Todos los reactivos vienen para microplaca de 96 pozos.

**Materiales adicionales**

- 1.- Pipeta de 50 y 100 UI con una precisión de 1,5 %
- 2.- Dispensadores de 0,100 ml y 0,350 ml con una precisión mayor a 1,5 %
- 3.- Dispensador de volumen ajustable (200 y 100 uL) para el conjugado.
- 4.- Lector de micro placas con capacidad de absorbancia de longitud de onda de 450 y 620 nm.
- 5.- Papel absorbente para el secado de las microplacas.
- 6.- Envoltura de plástico o cubierta de micro placa para la incubación.

**Muestras**

- Muestra de suero o plasma heparinizado
- Muestra debe ser tomada en ayunas
- Las muestras pueden ser refrigeradas a una temperatura de 2-8°C máximo hasta 5 días
- En caso de que no puedan ser analizadas dentro de los 5 días pueden ser almacenadas a una temperatura de 20°C hasta 30 días
- Evitar en lo posible la congelación y descongelación repetitiva.

## **PROCEDIMIENTO**

### **PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

#### **1. BÚFER PARA LAVADO**

Diluir los contenidos del concentrado del lavado a 100 ml con agua destilada o desionizada en un frasco adecuado el búfer diluido puede ser almacenado a temperatura ambiente hasta por 60 días.

#### **2. AGENTE DE LIBERACIÓN**

Adicionar la alícuota de agente estabilizante con el fin de preparar una solución 1/40 (agente estabilizante / agente liberador), por ejemplo para preparar 400 uL (4ml), adicionar 100 uL de agente de estabilización para 3900 uL de agente de liberación.

#### **3. EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA**

- Con los tubos suficientes para la preparación de todas las muestras de pacientes, controles y sueros de referencia.
- Dispensar 0,1 ml (100uL) de cada muestra dentro de los tubos de pruebas individuales.
- Pipetear 0,050ml (50uL) de búfer de liberación a cada tubo de prueba, agitar después de cada adición. Permitir que la reacción se efectúe durante 15 minutos al final de los 15 minutos, dispensar 0,050 ml (uL) de búfer de neutralización, agitar después de cada adición y finalizar la extracción.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Antes de proceder con el análisis llevar todos los reactivos las referencias séricas y los controles a temperatura ambiente.

1. Marcar los pozos de microplaca para cada muestra de referencia control y muestra a analizar por duplicado.
2. Pipetear 0,050 ml (50uL) de calibrador de vitamina B12 extraído apropiadamente control o muestra dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0,050 ml (50uL) de reactivo de vitamina B12 biotina a todos los pozos.
4. Agitar suavemente la microplaca durante 20 a 30 segundos para mezclar.
5. Cubrir e incubar durante 45 minutos a temperatura ambiente.
6. Adicionar 0,050 ml (50uL) de reactivo enzimático de vitamina B12 a todos los pozos.

Directamente en la parte superior añadir los reactivos dispensados en los pozos

7. Agitar suavemente la microplaca durante 20 a 30 segundos para mezclar.
8. Cubrir e incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
9. Desechar el contenido de la microplaca mediante decantación o aspiración. Si se realiza decantación secar la placa con papel absorbente.
10. Adicionar 350 uL de Búfer de lavado, decantar golpear y secar o aspirar repetir dos veces más para un total de tres lavados
11. Adicionar 0,100 ml (100uL) de reactivo de sustrato a todos los pozos.

Siempre añadir los reactivos en el mismo orden con el fin de minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.

**Nota: (No se debe agitar después de la adicción del sustrato)**

12. Incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos.
13. Añadir 0,050 ml (50 uL) de solución de parada a cada pozo y mezcle suavemente de 15 a 20 segundos.

Siempre añadir los reactivos en el mismo orden con el fin de minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.

14. Leer la absorbancia de cada pozo en 450 nm.

Los resultados deben de leerse dentro de los 30 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

### **Cálculo de Resultados**

Se utiliza una curva de dosis respuesta para determinar la concentración de vitamina B12 en muestras desconocidas.

1. Registrar la absorbancia obtenida a partir de la impresión del lector de microplaca.
2. Graficar la absorbancia para cada suero referencia duplicado frente a la correspondiente concentración de vitamina B12 en pg/mL en papel grafico lineal.
3. Trazar la mejor curva a través de los puntos.
4. Para determinar la concentración de vitamina B12 de una muestra desconocida, ubicar la absorbancia promedio de los duplicados para cada muestra desconocida en el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección de la curva y leer la concentración en pg/ml desde el eje horizontal del gráfico.

**Tabla N° 2:** Valores de referencia de la Vitamina B12

<b>POBLACIÓN</b>	<b>Pg/MI</b>	<b>pmol/L</b>
Recién nacidos	160-1300	118-959
Adultos	200-835	148- 616
Adulto > 60 años	110- 800	81-590

**FUENTE:** Inserto de la casa comercial MONOBINT

### **Con el espectrofotómetro ESTAT FAX 4.700.**

- ❖ Determinación de vitamina B12, utilizando el método de Inmunoensayo Enzimático Competitivo Retardado.

La técnica que se utilizará en el presente estudio será la observación en forma directa en la cual el instrumento será un registro específico que ayudará a tener un respaldo de los resultados de laboratorio (muestra de sangre) con los cuales se procederá a realizar un análisis profundo para establecer el número de pacientes que presentan anemia megaloblástica debido al consumo excesivo de alcohol.

### **PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.**

La recolección de la información se lo realizo en Movimiento Internacional 24 horas de Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”. La recolección de información complemento las estrategias metodológicas requeridas por los objetivos e hipótesis de investigación, de acuerdo en el enfoque escogido.

### **3.8 ASPECTOS ÉTICOS**

Siguiendo un régimen legal primero se les explico sobre que se trata la investigación seguida al acceder a realizarse el examen se quedó claro que ninguno de los pacientes está dispuesto a firmar el consentimiento informado, pero si contestar a mis preguntas que me sirvieron para la recolección información.

Ya que acuden voluntariamente debido a sus condiciones, se procedió a realizar la determinación de vitamina B12 y el frotis sanguíneo de cada uno de los pacientes participantes, los resultados obtenidos en los análisis serán entregados al Sr. Wilson Romero su Padrino ya que a ellos no les interesa los resultados más se enfatizan en querer ayudarme en la investigación y no recibir ninguna medicación

ya que ellos están en el centro voluntariamente y su recuperación se da con terapia auto diagnóstica.

**Considerando:** Que, la Constitución de la República del Ecuador, ordena:

## **REGLAMENTO CONTROL A CENTROS DE RECUPERACION A PERSONAS CON ADICCION**

**Norma:** Acuerdo Ministerial # 339

**Status:** Vigente Publicado: Registro Oficial # 272

**Fecha:** 6-9-2010

Art. 4.- Los Centros de Recuperación (CR) pueden ser: - Públicos o privados. - De consulta externa e internamiento. Art. 5.- Los CR tienen por finalidad ofrecer programas de promoción, prevención, diagnóstico, tratamiento, rehabilitación, reinserción social a personas con cualquier adicción por el consumo de alcohol, psicotrópicos, estupefacientes y otras sustancias que generen dependencia.

Art. 6.- Los Centros de Recuperación (CR), constituyen establecimientos de salud, que pueden ser organizaciones de la sociedad civil, o cualquier institución o persona natural, legalmente calificada y autorizada para brindar el servicio de promoción, prevención, tratamiento, rehabilitación y reintegración social, las mismas que estarán bajo la responsabilidad de un profesional de la salud con formación de cuarto nivel.

f.) Dra. Ximena Abarca Durán, Ministra de Salud Pública (E). Es fiel copia del documento que consta en el archivo del Proceso de Asesoría Jurídica al que me remito en caso necesario.- Lo certifico.- Quito, a 9 de agosto del 2010. f.) Dra. Nelly Mendoza Orquera, Secretaria General, Ministerio de Salud Pública. (37)



## **EL MINISTRO DE SALUD PÚBLICA**

Considerando:

Que, la Constitución de la República del Ecuador manda:

“Art. 32.- La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir. El Estado garantizará este derecho mediante políticas económicas, sociales, culturales, educativas y ambientales; y el acceso permanente, oportuno y sin exclusión a programas, acciones y servicios de promoción y atención integral en salud, salud sexual y salud reproductiva. La prestación de los servicios de salud se regirá por los principios de equidad, universalidad, solidaridad, interculturalidad, calidad, eficiencia, eficacia, precaución y bioética, con enfoque de género y generacional.”. **(38)**

Ley orgánica de salud ley 67 registro oficial suplemento 423 de 22- diciembre 2006.

Última modificación 24 de enero del 2012. Estado vigente

Art. 1.- La presente Ley tiene como finalidad regular las acciones que permitan efectivizar el derecho universal a la salud consagrado en la Constitución Política de la República y la ley. Se rige por los principios de equidad, integralidad, solidaridad, universalidad, irrenunciabilidad, indivisibilidad, participación, pluralidad, calidad y eficiencia; con enfoque de derechos, intercultural, de género, generacional y bioético.

Art. 2.- Todos los integrantes del Sistema Nacional de Salud para la ejecución de las actividades relacionadas con la salud, se sujetarán a las disposiciones de esta Ley, sus reglamentos y las normas establecidas por la autoridad sanitaria nacional.

Art. 3.- La salud es el completo estado de bienestar físico, mental y social y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades. Es un derecho humano inalienable, indivisible, irrenunciable e intransmisible, cuya protección y garantía es responsabilidad primordial del Estado; y, el resultado de un proceso colectivo de interacción donde Estado, sociedad, familia e individuos convergen para la construcción de ambientes, entornos y estilos de vida saludables.

Art. 4.- La autoridad sanitaria nacional es el Ministerio de Salud Pública, entidad a la que corresponde el ejercicio de las funciones de rectoría en salud; así como la responsabilidad de la aplicación, control y vigilancia del cumplimiento de esta Ley; y, las normas que dicte para su plena vigencia serán obligatorias.

Art. 5.- La autoridad sanitaria nacional creará los mecanismos regulatorios necesarios para que los recursos destinados a salud provenientes del sector público, organismos no gubernamentales y de organismos internacionales, cuyo beneficiario sea el Estado o las instituciones del sector público, se orienten a la implementación, seguimiento y evaluación de políticas, planes, programas y proyectos, de conformidad con los requerimientos y las condiciones de salud de la población.

Art. 6.- Es responsabilidad del Ministerio de Salud Pública: 1. Definir y promulgar la política nacional de salud con base en los principios y enfoques establecidos en el artículo 1 de esta Ley, así como aplicar, controlar y vigilar su cumplimiento; 2. Ejercer la rectoría del Sistema Nacional de Salud.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 TABULACIÓN DE DATOS

**TABLA N° 3.- Resultados**

CÓDIGO	EDAD	FROTIS		VITAMINA B12 (pg/mL)
		Macrocitosis	Hipersegmentación de los Neutrófilos	
1	27	SI	SI	160
2	64	SI	SI	84,6
3	53	SI	SI	108,6
4	28	SI	SI	149,2
5	52	SI	NO	98,2
6	38	SI	SI	137,8
7	29	SI	SI	125,5
8	18	SI	SI	120,2
9	30	SI	SI	115,6
10	28	SI	SI	138,7
11	24	NO	NO	262
12	23	SI	SI	116,7
13	35	SI	SI	98,5
14	29	SI	SI	96,6
15	55	SI	SI	112,2
16	46	NO	NO	246,7
17	33	NO	NO	373
18	48	NO	NO	282,6
19	62	SI	SI	108,8
20	36	SI	NO	103,1
21	54	SI	SI	131
22	58	SI	SI	147,5
23	39	SI	SI	107,2
24	37	SI	SI	99,8
25	27	SI	SI	106,7
26	48	SI	NO	119,2
27	45	SI	SI	108,5
28	52	SI	NO	98,2
29	62	SI	SI	75,2
30	53	SI	SI	120,5
31	32	NO	NO	289
32	30	NO	NO	248,8
33	59	SI	SI	114,3

34	48	SI	SI	112,5
35	65	SI	NO	106,4
36	64	SI	SI	93,5
37	47	SI	NO	113,3
38	48	SI	SI	128,3
39	62	NO	NO	380
40	27	SI	SI	142

Se analizó los datos recogidos mediante una entrevista con los pacientes y los resultados obtenidos en el procesamiento de las muestras sanguíneas. Se analizaron 40 muestras sanguíneas de los pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, con los cuales se cumplió con los objetivos planteados en la investigación.

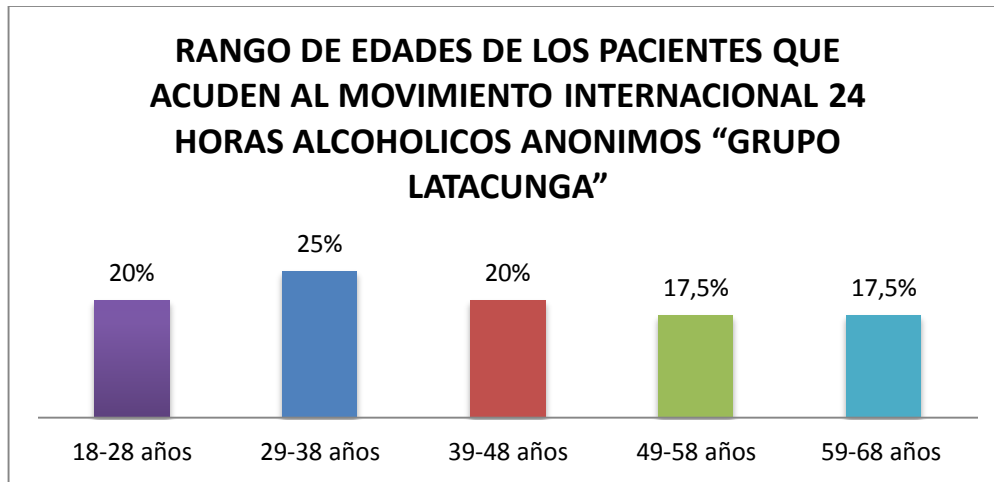
**Tabla N° 4.- Edades**

<b>RANGO DE EDADES DE LOS PACIENTES QUE ACUDEN AL MOVIMIENTO INTERNACIONAL 24 HORAS ALCOHOLICOS ANONIMOS “GRUPO LATACUNGA”</b>		
<b>EDADES</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
18-28 años	8	20%
29-38 años	10	25%
39-48 años	8	20%
49-58 años	7	17,5%
59-68 años	7	17,5%
Total	40	100%

**Elaborado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”.

**Gráfico N° 1.- Edades**



**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
"GRUPO LATACUNGA".

### **Análisis**

De los 40 pacientes que acuden AL Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos "GRUPO LATACUNGA", se destaca que el 20% está en un rango de edad de 18 a 28 años, el 25% su rango de edad es de 29 a 38 años, seguido del 20% de 38 a 48 años y con un 17,5% el rango de edad es de 49 a 58 años al igual que el rango de edades de 59 a 68 años.

### **Interpretación**

De acuerdo a los datos obtenidos, pudimos observar que la mayor parte de pacientes que acuden Movimiento internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos "GRUPO LATACUNGA", se encuentra en un rango de edad de 29 a 38 años.

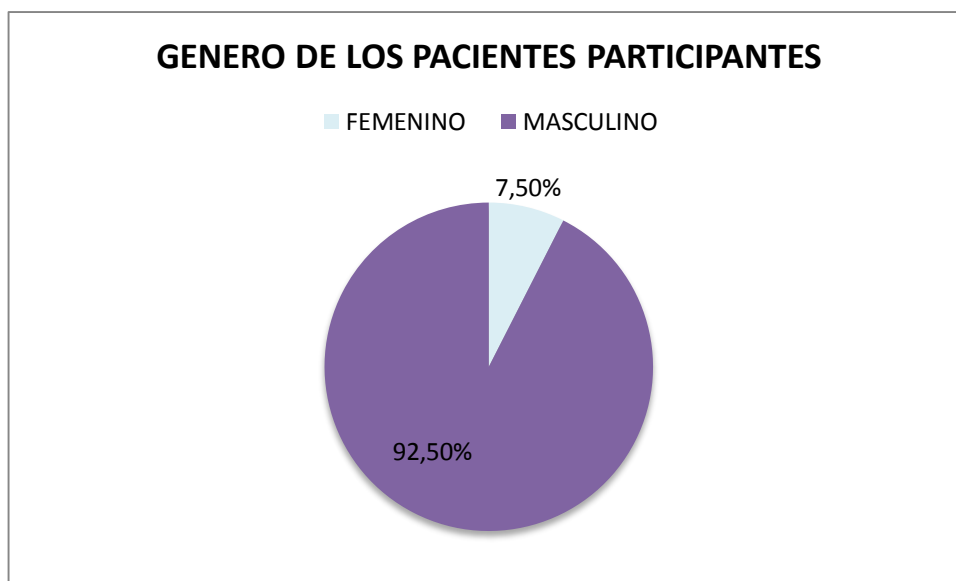
**Tabla N°5.- Género**

<b>GENERO DE LOS PACIENTES PARTICIPANTES</b>		
<b>GÉNERO</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
FEMENINO	3	7,5%
MASCULINO	37	92,5%
TOTAL	40	100%

**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
“GRUPO LATACUNGA”

**Gráfico N° 2.- Género**



**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
“GRUPO LATACUNGA”

### **Análisis**

De los 40 pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, el 92,5% son de género masculino, mientras que el 7,5% son de género femenino.

### **Interpretación**

De acuerdo a los datos obtenidos, se observó que la mayor parte de pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA” son de género masculino con un 92,5%, sumando un total de 37 y el resto son de género femenino.

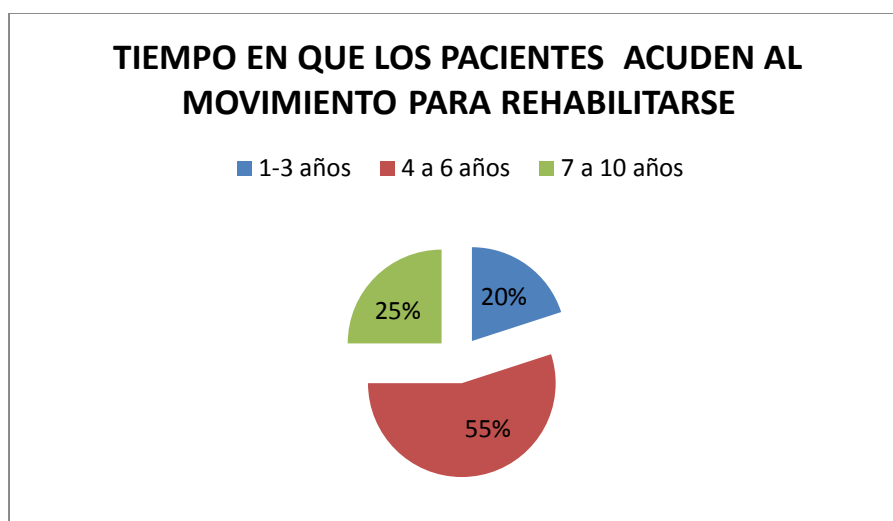
**Tabla N°6.- Tiempo que acuden Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”**

<b>TIEMPO EN QUE LOS PACIENTES ACUDEN AL MOVIMIENTO PARA REHABILITARSE</b>		
<b>TIEMPO QUE ACUDEN AL MOVIMIENTO</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
1-3 años	8	20%
4 a 6 años	22	55%
7 a 10 años	10	25%
TOTAL	40	100%

**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
“GRUPO LATACUNGA”

**Gráfico N° 3.- Tiempo que acuden Movimiento Internacional de 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”**



**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
“GRUPO LATACUNGA”

**Análisis**

De los 40 pacientes del Movimiento Internacional de Alcohólicos anónimos “GRUPO LATACUNGA”, 22 pacientes acuden de 4 a 6 años, 10 pacientes de 7 a 10 años y 8 pacientes acuden al centro de 1 a 3 años.

**Interpretación**

De lo observado en el Movimiento Internacional 24 horas de Alcohólicos anónimos “GRUPO LATACUNGA” la mayor parte de pacientes acuden al Movimiento de 4 a 6 años tiempo adecuado para el estudio de la investigación, dando un porcentaje de casos estudiados del (55%), mientras que los demás acuden al movimiento en un rango menor de tiempo.



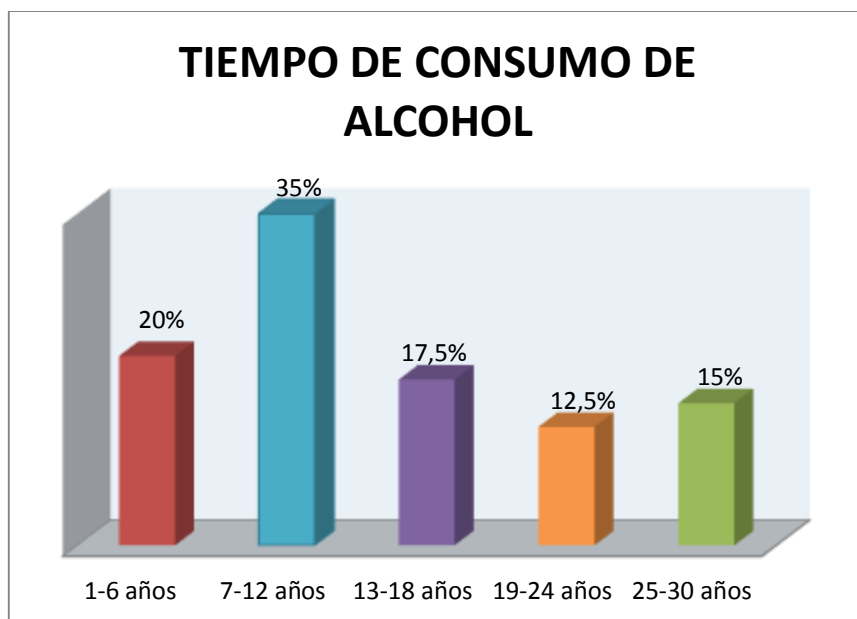
**Tabla N° 7.- Tiempo de consumo de alcohol**

<b>TIEMPO DE CONSUMO DE ALCOHOL</b>		
<b>TIEMPO DE ALCOHOLISMO</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
1-6 años	8	20%
7-12 años	14	35%
13-18 años	7	17,5%
19-24 años	5	12,5%
25-30 años	6	15%
<b>TOTAL</b>	<b>40</b>	<b>100%</b>

**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
“GRUPO LATACUNGA”

**Gráfico N° 4.- Tiempo de consumo de alcohol**



**Realizado por:** Quispe Magaly

**Fuente:** Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos  
“GRUPO LATACUNGA”

## **Análisis**

De los 40 pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, 35% son alcohólicos de 7 a 12 años, 20% de 1 a 6 años, 17,5% de 13 a 18 años, 15% de 19 a 24 años y el 12,5% son alcohólicos de 25 a 30 años.

## **Interpretación**

De acuerdo a los datos obtenidos, podemos observar que la mayor parte de pacientes son alcohólicos en un rango de tiempo de 7 a 12 años con un total de 14 casos (35%), es decir el tiempo pertinente para el estudio planteado, ya que la deficiencia de la vitamina B12 en conjunto con el polimorfismo de células rojas o hematíes se dan a partir de que el paciente haya tenido antecedentes alcohólicos en un rango de tiempo de 3 a 5 años.

## 4.2 RESULTADOS DE LABORATORIO

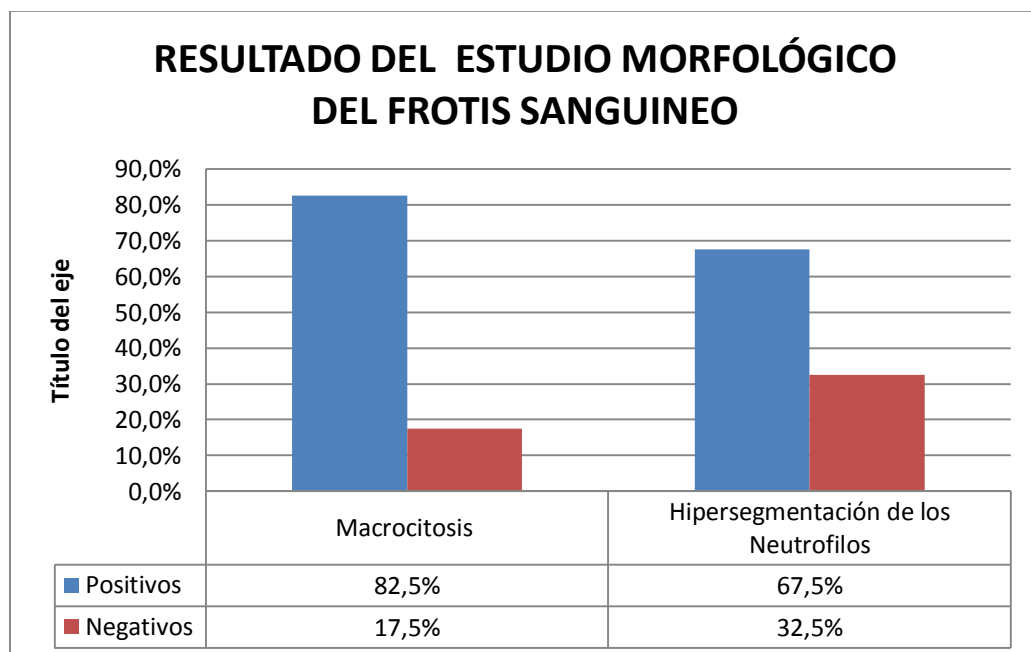
**Tabla N° 8.- Características celulares**

<b>RESULTADO DEL ESTUDIO MORFOLÓGICO DEL FROTIS SANGUINEO</b>				
<b>CARACTERÍSTICAS CELULARES</b>	<b>POSITIVOS</b>		<b>NEGATIVOS</b>	
	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>	<b>FRECUENCIA</b>	<b>PORCENTAJE</b>
Macrocitosis	33	82,5%	7	17,5%
Hipersegmentación de los Neutrófilos	27	67,5%	13	32,5%

**Autor:** Quispe, Magaly; 2016

**Fuente:** Investigación Propia

**Gráfico N°5.- Característica celulares**



**Autor:** Quispe, Magaly; 2016

**Fuente:** Investigación Propia

## **Análisis**

De los 40 pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, 33 pacientes presentan Macrocitosis mientras que 7 pacientes no lo presentan y 27 pacientes presentan Hipersegmentación de los Neutrófilos, mientras que 13 pacientes no lo presentan, pero si presentan otros tipos de polimorfismo como anisocitosis y esferocitosis.

## **Interpretación**

De acuerdo a lo observado la mayor parte de los pacientes presentan una Macrocitosis con un 82,5%, pero también existe un alto porcentaje que presenta Hipersegmentación de los Neutrófilos con un 67,6% lo que quiere decir que los resultados obtenidos son favorables presentando así en la mayoría de los neutrófilos más de 6 lóbulos, lo que es característico en anemias megaloblástica causado por deficiencia de vitamina B12 debido al consumo excesivo de alcohol, están acordes a lo que se necesitaba en la investigación para realizar la comprobación de la hipótesis.

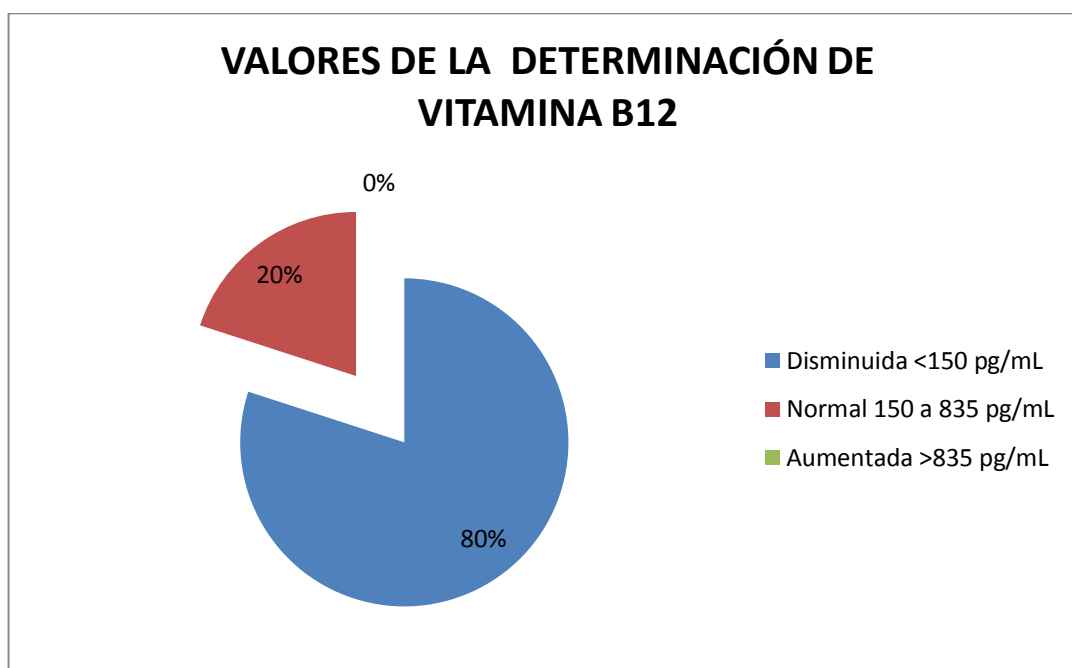
**Tabla N° 9.- Vitamina B12**

<b>VALORES DE LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12</b>		
VALORES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Disminuida <150 pg/mL	32	80%
Normal 150 a 835 pg/mL	8	20%
Aumentada >835 g/mL(Alto)	0	0%
TOTAL	40	100%

**Autor:** Quispe, Magaly; 2016

**Fuente:** Investigación Propia

**Gráfico N° 6.- Vitamina B12**



**Autor:** Quispe, Magaly; 2016

**Fuente:** Investigación Propia

## **Análisis**

De los 40 pacientes que acuden al Movimiento Internacional 24 horas Alcohólicos Anónimos “GRUPO LATACUNGA”, 32 pacientes presenta un bajo nivel de Vitamina B12 (< 150 pg/mL), 8 pacientes presentan un nivel normal de Vitamina B12 (150 a 835 pg/mL), mientras que ningún paciente presento un nivel alto.

## **Interpretación**

De acuerdo a lo observado existe un alto porcentaje de pacientes que presentan un nivel bajo de Vitamina B12 es decir < 150 pg/mL con un total de 80%, lo que está estrechamente relacionado al polimorfismo de células rojas ocasionado por el consumo excesivo de alcohol.

## **4.3 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS**

### **Paso I.- Hipótesis estadística**

Hi: Los valores bajos de Vitamina B12 se relacionan con las alteraciones morfológicas en células rojas en pacientes alcohólicos.

Ho: Los valores bajos de Vitamina B12 no se relacionan con las alteraciones morfológicas en células rojas en pacientes alcohólicos.

### **Paso II.- Estadístico de prueba**

$$t = \frac{d}{s/\sqrt{n}}$$

t: t de Student

d: promedio de la diferencia

s: desviación estándar del promedio de la diferencia

$\sqrt{n}$ : raíz cuadrado de n total de la población

### Paso III.- Niveles de significancia.

Se acepta la hipótesis nula si el valor a calcularse de t Student es menor al valor de t crítico basada en el margen de error = 0,05.

### Paso IV.- Toma de decisión.

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación típ.	Error tít. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Par 1 Vitamina B12 - Polimorfismos en células rojas	-,625	,774	,122	-,873	-,377	-5,106	39	,000

Según lo observado se rechaza la hipótesis nula debido a que el valor de t crítica basada en su margen de error es de  $0,05 < t$  calculada dio un valor de error de = 0,000. Como la t calculada es menor que la t crítica permite concluir que los valores obtenidos de la vitamina B12 y estudio morfológico del frotis sanguíneo presentan un polimorfismo en las células rojas o hematíes como también hipersegmentación de los neutrófilos, si los pacientes presentan Anemia Megaloblástica

## CONCLUSIONES

Una vez ya terminado el proyecto de investigación y relacionándolo con cada una de las variables y objetivos, se pudo demostrar que existe una deficiencia de Vitamina B12, como también estuvo presente el polimorfismo de células rojas característico de anemia megaloblastica en pacientes alcohólicos.

- ✓ Al Movimiento Internacional 24 horas “Grupo Latacunga” acudieron 40 pacientes de los cuales 37 hombres y 3 mujeres con un rango de edades entre 29 – 38 años con antecedentes alcohólicos de 7 – 12 años, lo cual al obtener los resultados de vitamina B12 y relacionarlo con el polimorfismo de células rojas, se pudo apreciar tanto la disminución de la vitamina B12, el polimorfismo en los eritrocitos y la hipersegmentación en los neutrófilos.
  
- ✓ Al valorar los resultados de la fórmula hemática debido a las características morfológicas de los eritrocitos como son (macrocitosis e hipersegmentación de los neutrófilos), con los resultados de la Vitamina B12 que fueron estos <150 pg/mL relacionándola así con la anemia megaloblastica.
  
- ✓ Lo cual podemos definir que el consumo de alcohol ocasiona un déficit de Vitamina B12, alteración en la forma de las células rojas e hipersegmentación de los neutrófilos las cuales son características principales de anemia megaloblastica.



## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Acosta A. Anemia Megaloblástica. Mensual \_MED\_UNNE. 2008 Febrero ; I(3): p. 17-18
2. Argueles GJR. Fundamentos de Hematología Colombia : Panamericana ; 2003.
3. Baynes JW, Marek D. Bioquímica Médica. Segunda ed. Baynes JW, Marek D, editors. Madrid- España: Elsevier; 2007. (27)
4. Benjamín F, Rosario M. Tecnicas de Análisis Hematológicos. Primera ed.
5. Bennington. Diccionario Enciclopédico Del Laboratorio Clínico. Segunda ed. Alvares MT, editor. Madrid- España: Panamericana S.A; 2000
6. Blandón PAG. Fundamentos de Nutrición. Primera ed. Arce CA, editor. Costa Rica: Médica Panamericana S.A; 1983.
7. Bunn F. Vitamin B12 and Pernicious Anemia — The Dawn of Molecular Medicine. Savalnet. 2014 diciembre ; I(12).
8. D. Tango I. Consecuencias Del Deficit De Vitamina B12. Mensual SCIELO. 2013 Febrero; II(40).
9. Durán DXA. Reglamento Control A Centros De Recuperacion A Personas Con Adicción. Status. 2010 Agosto; I(2).
10. Ernesto J. Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Madrid, España: Tood-Sanford&\_Davidsohn; 2007. p. 35 – 50.
11. F S. Estudios FAO Alimentación y Nutrición. Informe de una Consulta Mixta. 2012 Octubre; I(3).

12. Gay R, McComb R, Bowers G. Commission Enzymologie de la Societe Francaise de Biologie Clinique. In Gay R, McComb R, Bowers G, editors. QCA (Quimica Clinica Aplicada). Bergmeyer: H.U. Bergmeyer; 1983. p. 740-753. (29).
13. Gonzáles YM. Vitamina Influencia que ejerce en la Cicatrización y Alteraciones de la Aabidad Bucal. In Gonzáles YM, editor. Vitaminas. Venezuela: ISNB; 1997. p. 21-34.
14. Gutierrez J. Bases Fisiopatológicas de Laboratorio Clínico. (2a ed) España: Limusa 35 – 45p; 2010.
15. Henry J. El laboratorio en el diagnóstico clínico (2a ed) México: Editorial El Manual Moderno. 35 – 50p.; 2007.
16. Hoffman WBA. Vitaminas Suplementos y Minerales. Segunda ed. Hoffman WBA, editor. Caribe: Caribe. Inc; 2005.
17. J , Zittoun. Clinica Moderna Cobalamina. In Conde DA, editor. Vitaminas y sus funciones. Palmas : D,E,S,L ; 2013. p. 22-51.
18. John Bernard Henry MD. Diagnóstico Clínico. In Marbán Libros SL, editor. El Laboratorio en el Diagnóstico Clínico. Madrid, España: Tood-Sanford & Davidsohn; 2007. p. 35 – 50.
19. J.b.maiale. Hematología Medicina de Laboratorio Barcelona : REVERTÉ S.A; 1985.
20. Kelley. Medicina Interna Argentina : Medica Panamericana S.A; 1992.

21. López JM. Laboratorio Clínico Hematología. primera ed. Henry , editor. Madrid- España: Márban, S.L.; 2007.
22. Llamas FP. Alimentación Humana. Segunda ed. Llamas FP, editor. Murcia- España : Panamericana I.S.B.N; 2002.
23. Macrocytosis,macrocytic anemia,vitamin B12 deficiency,; 2015; Buenos Aires. p. 222-232.
24. Mariano JC. Vitaminas y Minerales. Primera ed. Mariano JC, editor. España: Complutense, S.A.; 2012.
25. Masson JMPV. La Clínica y el Laboratorio. Décima ed. Balcells A, editor. Barcelona- Madrid: I.S.N.B; 2011.
26. Miján A. Técnicas Y Métodos De La Nutrición Humana. Segunda ed. Miján A, editor. Barcelona: Glosa, S.L; 2002.
27. Ortiz M. Modern clinical testing strategies in vitamin B12. Programa de doctorado. 2002 Noviembre ; I(4).
28. Rodak FJ. hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. Segunda ed. Rodak FJ, editor. Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A; 2002.
29. Torre AM. Técnicas y Métodos de Investigación en Nutrición Humana. Tercera ed. Manrubia C, editor. Barcelona: Glosa, S.L ; 2002.
30. X. Fuentes Arderiu M. Bioquímica Clínica y Patología molecular Volumen II. Segunda ed. Fuentes , editor. Barcelona España: Reverte. SA; 2005.

## LINKOGRAFÍA

1. Ac a. Medlineplus. [Online].; 2014 [cited 2014 02 24. Available from:  
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000569.htm>.
2. Ac. A. Clinicadam. [Online].; 2015 [cited 2015 02 25. Available from:  
<http://www.clinicadam.com/salud/5/000569.html>.
3. Alex Brito ehmodghslharu. Sitio web de Scielo. gob. ve. [Online].; 2012 [cited  
2013 Noviembre 11. Available from:  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872012001100014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872012001100014&script=sci_arttext).
4. Alex Brito E. Sitio web de Scielo. gob. ve. [Online].; 2012 [cited 2013  
Noviembre 11. Available from:  
[http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872012001100014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872012001100014&script=sci_arttext).
5. [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872012001100014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0034-98872012001100014&script=sci_arttext).
6. Altילו CP. Monografias Anemia Megaloblastica. [Online].; 2015 [cited 2015  
Marzo 25. Available from:  
<http://www.altילו.com/medicina/monografias/anemias.asp>.
7. Balducci L, Ershler W. Blood Disorders in the Elderly. [Online].; 2007.  
Available from:  
<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10221552&p00=anemia>.
8. Cuenca UD. Repositorio Seria. [Online]. Cuenca ; 2014 [cited 2013  
Septiembre 14. Available from:  
<http://repositorio.cedia.org.ec/bitstream/123456789/704/1/Tejidos%20de%20celula%20sanguinea.pdf>.

9. Delgado T, Garcés MF, Rojas B, San Juan J, et al. scielo.org.ve. [Online].; 2013 [cited 2016 Enero 22. Available from:  
[http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06492013000300002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06492013000300002&script=sci_arttext). (4)
  
10. Deliamm. Sitio web Sandra. Realización de una extensión sanguínea. [Online].; 2014 [cited 2014 Noviembre 7. Available from:  
<http://deliamm96cuadernopracticashema14.blogspot.com/2014/11/practica-realizacion-de-una-extension.html>.
  
11. Doscherholmen A. Studies in the Metabolism of Vitamina B12. [Online].; 1965. Available from:  
<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10231306&p00=anemia+megaloblastica>.
  
12. Echarlis LC. Sitio web de Educación en Química Clínica. [Online].; 2006 [cited 2006 Octubre 25. Available from:  
[http://www.labechandi.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=70&Itemid=77](http://www.labechandi.com/index.php?option=com_content&view=article&id=70&Itemid=77).
  
13. Garcia-Frade Ruiz LF. Tratado de trombosis. [Online].; 2015. Available from:  
<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=11059314&p00=polimorfismos+de+los+globulos+rojos>.
  
14. Inec. cifras del alcoholismo. [Online].; 2012 [cited 2012 Marzo 3. Available from:  
[http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com\\_content&view=article&id=615%3Amas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol&catid=56%3Adestacados&Itemid=3&lang=es](http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com_content&view=article&id=615%3Amas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol&catid=56%3Adestacados&Itemid=3&lang=es).
  
15. INEC. actividades y Recursos en Salud. [Online].; 2013 [cited 2013 Enero 3. Available from: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/actividades-y-recursos-de-salud/>.

16. INEC. Red de Salud Pública. [Online].; 2013 [cited 2013 Enero 20. Available from: <http://www.salud.gob.ec/subsecretaria-nacional-de-gobernanza-de-la-salud-publica/>
  
17. Jiménez M. Sitio web de Onmeda International. [Online].; 2000 [cited 2000 mayo 8. Available from: [http://www.onmeda.es/exploracion\\_tratamiento/hemograma.html](http://www.onmeda.es/exploracion_tratamiento/hemograma.html).
  
18. Licata LM. Zonadiet. [Online].; 2015 [cited 1999 06 01. Available from: <http://www.zonadiet.com/nutricion/vit-b12.htm>.
  
19. Mamani RQ. Sitio web de Ronquiman. [Online].; 2006 [cited 2006 Julio 18. Available from: <http://ronquiman.jimdo.com/bioquimica/biologia/frotis-sanguineo/>.
  
20. Maniatis A, Hardy JF. Alternatives to Blood Transfusion in Transfusion Medicine ("). [Online].; 2010. Available from: <http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10412449&p00=anemia>.
  
21. Mazza J. EBRARY. [Online].; 2008 [cited 2016 Junio 02. Available from: <http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10865294&p00=anemia>.
  
22. Médica E. Hematología. [Online].; 2011 [cited 2011 Febrero 8. Available from: [http://www.gfmer.ch/Educacion\\_medica\\_Es/Pdf/Alteraciones\\_genicas\\_cromosomicas.pdf](http://www.gfmer.ch/Educacion_medica_Es/Pdf/Alteraciones_genicas_cromosomicas.pdf).

23. Medipluss. sitio web de A. Angeles. [Online].; 2009 [cited 2009 Julio 6. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/vitamins.html>
24. Mendosa DN. org msp. [Online].; 2010 [cited 2009 Agosto 6. Available from: [http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento\\_institucional/legislations/PDF/EC/decreto\\_339.pdf](http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/legislations/PDF/EC/decreto_339.pdf).
25. Microeinmunoensayo. Microeinmunoensayo. [Online].; 2008 [cited 2008 Agosto 18. Available from: <https://microeinmuno.files.wordpress.com/2011/08/frotis-sangueadneomicroe-inmuno.pdf>.
26. Nec. cifras del alcoholismo. [Online].; 2012 [cited 2012 Marzo 3. Available from: [http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com\\_content&view=article&id=615%3Amas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol&catid=56%3Adestacados&Itemid=3&lang=es](http://www.inec.gob.ec/inec/index.php?option=com_content&view=article&id=615%3Amas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol&catid=56%3Adestacados&Itemid=3&lang=es).
27. Pública MdS. nexolocal oms. [Online].; 2010 [cited 2010 Mayo 23. Available from: <http://ambato.nexolocal.com.ec/p3668671-ministerio-de-salud-publica-de-ecuador-tena-medicina-enfermeria>.
28. Perez PK. Ecuador Ama la Vida. [Online].; 2012 [cited 2011 Julio 5. Available from: [http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento\\_institucional/legislations/PDF/EC/decreto\\_339.pdf](http://www.cicad.oas.org/fortalecimiento_institucional/legislations/PDF/EC/decreto_339.pdf).
29. Sergas. wikipedia. [Online].; 2015 [cited 2015 02 08. Available from: [http://es.wikipedia.org/wiki/Anemia\\_perniciosa](http://es.wikipedia.org/wiki/Anemia_perniciosa).

## CITA BLIBLIOGRAFICAS BASE DE DATOS UTA

**EBRARY.** Balducci, L., & Ershler, W. (2007). *Blood Disorders in the Elderly.*

Obtenido de

<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10221552&p00=anemia>

**EBRARY.** Doscherholmen, A. (1965). *Studies in the Metabolism of Vitamina B12.* Obtenido de

<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10231306&p00=anemia>

+megaloblastica

**EBRARY.** Garcia-Frade Ruiz, L. F. (2015). *Tratado de trombosis.* Obtenido de

<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=11059314&p00=polimo>

rfismos+de+los+globulos+rojos

**EBRARY.** Maniatis, A., & Hardy, J.-F. (2010). *Alternatives to Blood Transfusion*

in *Tranfusion Medicine* (").Obtenido de

<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10412449&p00=anemia>

**EBRARY.** Mazza, J. (2008). *Manual Clinical Hematology.* Recuperado el 02 de

Junio de 2016, Obtenido de

<http://site.ebrary.com/lib/uta/detail.action?docID=10865294&p00=anemia>



# ANEXOS

**ANEXO N° 1.- PROCESAMIENTO DE LA TOMA DE MUESTRAS EN EL MOVIMIENTO INTERNACIONAL 24 HORAS “GRUPO LATACUNGA” Y PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO CLINICO “ALVAREZ”**



**FIGURA 1.- LUGAR DONDE SE TOMO LAS MUESTRAS PARA SU POSTERIOR INVESTIGACIÓN**



**FIGURA 2.- ENTREGA DE INFORMACION HACIA LOS PACIENTES DEL MOVIMIENTO**

## EXTRACCIÓN SANGUÍNEA



**FIGURA 3 Y 4.- TOMA DE MUESTRAS MEDIANTE PUNCION VENOSA A LOS PACIENTES PARTICIPANTES DEL MOVIMIENTO**

## FROTIS SANGUÍNEO



**FIGURA 5, 6, 7, 8.- PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA PARA LA REALIZACION DEL FROTIS SANGUÍNEO.**



**FIGURA 9.-** OBSERVACION DE LOS FROTIS SANGUINEOS CON LA SUPERVISIÓN DE LA DR. TATIANA ESCOBAR EN EL LABORATORIO DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.



**FIGURA 10, 11 .-** Desechamos el contenido y realizamos el lavado adicionando 350uL del Bufer de lavado repetimos 2 veces el procedimiento, adicionamos 100 uL del sustrato incubamos durante 20 minutos.

## INMUNO ENSAYO ENZIMATICO EN MICROPLACAS.



**FIGURA 12,13 .-** MUESTRAS Y EQUIPO UTILIZADOS PARA REALIZAR LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA B 12

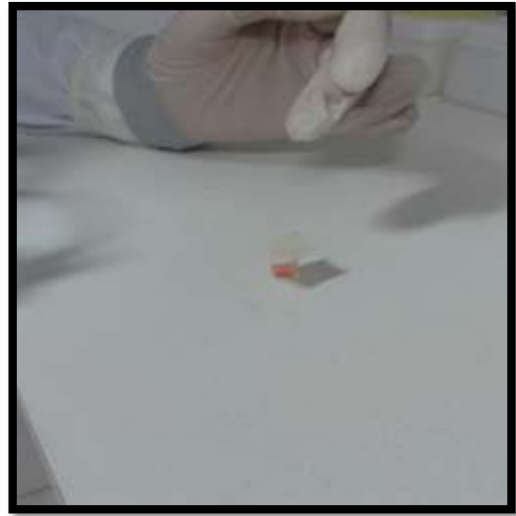


**FIGURA 14,15,16 .-** INGRESO DE LA PRUEBA VITAMINA B12 AL EQUIPO STAT FAX 4700.

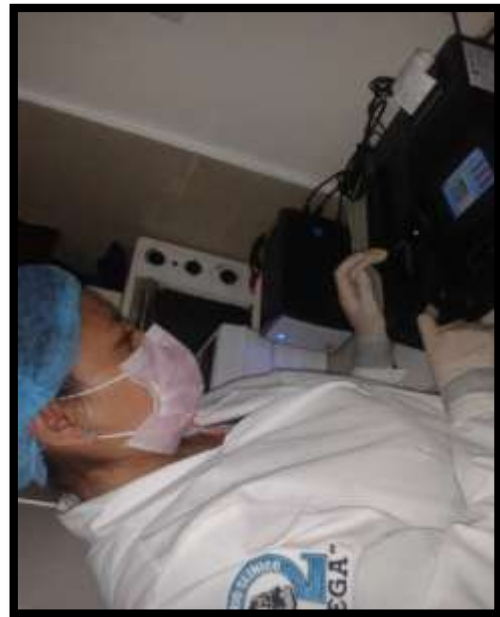




**FIGURA 17,18, 19, 20 .-** Agitar suavemente, cubrir los pozillos y esperar 45 minutos .



**FIGURA 21,22** .- Adición del reactivo enzimático de vitamina B12, agitar suavemente, cubrirlos e incubamos 30 minutos.



**FIGURA 23,24** .- Adición de la solución de parada y mezclar de 15-20 segundos suavemente lectura después, de los 30 minutos a 450nm.



## ANEXO N° 2.- CARACTERÍSTICAS DE LAS VITAMINAS

Tabla N° 10: Características de las vitaminas

<b>VITAMINAS</b>	<b>DONDE SE LAS ENCUENTRAN</b>
<b>Retinol o vitamina A</b>	Se la encuentra en el aceite de hígado y bacalao
<b>Tiamina o vitamina B1</b>	Se la encuentra en el salvado de arroz.
<b>Ácido ascórbico o vitamina C</b>	Se la encuentra en los cítricos y en la mayoría de alimentos frescos.
<b>Calciferol o vitamina D</b>	Se la encuentra en el aceite de hígado y aceite de bacalao.
<b>Riboflavina o vitamina B2</b>	Se la encuentra en las carnes lácteos y huevos.
<b>Tocoferol o vitamina E</b>	Se la encuentran en aceites de germen de trigo y en aceites vegetales sin freír
<b>Cianocobalamina o vitamina B12</b>	Se la encuentra en hígado, huevos, productos animales
<b>Filoquinona vitamina K1</b>	Se la encuentra en las legumbres.
<b>Ácido pantoténico o vitamina B5</b>	Se la encuentra en las carnes y cereales integrales.
<b>Biotina o vitamina B7</b>	Se la encuentra en carnes, lácteos y huevos.
<b>Piridoxina o vitamina B6</b>	Se la encuentra en las carnes y lácteos.
<b>Niacina o vitamina B3</b>	Se la encuentra en las carnes y cereales.
<b>Ácido fólico o vitamina B9</b>	Se los encuentran en las legumbres.

Fuente: Fundamentos de Nutrición

### ANEXO N° 3.- FORMATO DE RESULTADO DE LABORATORIO



## LABORATORIO CLINICO "ALVAREZ"

Leda Norma Alvarez

LABORATORISTA CLINICA

Dirección: Calle García Moreno y 24 de Mayo TEL: 2 730-437 Cel. 0993637526

Atención las 24 Horas

PACIENTE: Sr. JAIME SARANGO  
DOCTOR. (A):

EDAD: 53 AÑOS  
FECHA: 26 -02-2018

### QUIMICA SANGUÍNEA

#### EXAMENES SOLICITADOS:

#### RESULTADO

#### VALORES NORMALES

VITAMINA B12

108,6

110 - 835 pg/dL

### BIOMETRÍA HEMÁTICA

#### EXAMENES SOLICITADOS:

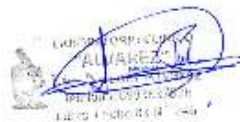
#### RESULTADO

Neutrófilos Hipersegmentados

Hasra 7 Lóbulos Presentes

Macroцитosis

Presentes



**ANEXO N° 4.- AUTORIZACIÓN DEL LABORATORIO CLÍNICO ALVAREZ PARA LA REALIZACIÓN DE LOS ANÁLISIS DE VITAMINA B12 Y FROTIS SANGUÍNEO.**



**LABORATORIO CLINICO "ALVAREZ"**

LABORATORISTA CLINICA

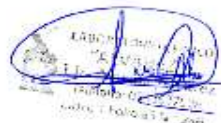
Lda. Norma Álvarez

Dirección: Calle García Moreno y 24 de Mayo TEL: 2 730-437 Cel. 0993637526

Atención las 24 Horas

Yo, **NORMA RAQUEL ALVAREZ VAZCO**, con cedula de identidad **0502788946**, como propietaria del **LABORATORIO CLÍNICO "ÁLVAREZ"**, ubicado en la ciudad de Salcedo en las calles García Moreno y 24 de Mayo, autorizo a la señorita, **MAGALY ESTHER QUISPE RAMÍREZ**, con cedula de identidad **0503401853**, Estudiante del Décimo Semestre de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato, el uso de mi Laboratorio y de los equipos que se encuentran dentro de mis instalaciones para que realice las siguientes pruebas dentro de la institución.

Determinación de vitamina B12 utilizando el espectrofotómetro **ESTAT FAX 4.700** con el reactivo de la casa comercial **MONOBINDInc** utilizando suero humano mediante la técnica inmunoensayo enzimático en microplaca y la tinción de wright del frotis sanguíneo con el colorante de la casa **TECNOLAB WRIGHT**.



## ANEXO N° 5.- OFICIO PARA PEDIR AUTORIZACIÓN PARA REALIZAR EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN EN EL CENTRO DE ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Carrera de Laboratorio Clínico  
Calles Salvador y México (Cda. Ingahurco) Telefax: 2521134 Ext. 113  
Ambato - Ecuador

Ambato, 31 de julio de 2015  
FCS- CLC - C -565- 2015

Sres.  
CENTRO ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA  
Latacunga.


De mis consideraciones:



En atención a la solicitud de la Señorita QUISPE RAMIREZ MAGALY ESTHER, con C.C. 050340185-3, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, mediante el cual solicita que se extienda un oficio a su persona a fin de que se le permita acceder y obtener información, para el desarrollo del proyecto de investigación del tema titulado "DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO DE CELULAS ROJAS EN PACIENTES ALCOHOLICOS", previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico.

Por lo mencionado anteriormente me permito solicitar muy comedidamente que se le brinden, todas las facilidades del caso para la obtención de la información que requiere para el desarrollo del proyecto de investigación.

Por la favorable atención que dé a la presente me suscribo.

Atentamente

  
Lcda. Mg. Dolores Salazar  
COORDINADOR ENCARGADA DE CARRERA

	Siglas	Rúbrica	Fechas
Elaborado por:	RSS	RSS	31/07/2015
Revisado por:	VNP		31/07/2015
Autorizado por:	VNP		31/07/2015



**ANEXO N°6.- VOLANTE INFORMATIVO ENTREGADO EN EL CENTRO DE ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA**

Tal vez se pregunte ¿QUÉ ES ALCOHÓLICO ANÓNIMOS?

Para contestar a esta pregunta se que fue creado nuestro enunciado que describe de manera breve lo que es Alcohólicos Anónimos.

A continuación transcribimos el referido:

**ENUNCIADO**

**ALCOHÓLICOS ANÓNIMOS** es una comunidad de Hombres y Mujeres que comparten su mutua experiencia, fortaleza y esperanza de poder resolver su problema común y ayudar a otros a establecerse del alcoholismo.

El único requisito para pertenecer a esta comunidad es el deseo de dejar de beber. Para ser miembros de A.A. No se pagan derechos ni cuotas, ni transacciones con ninguna propia contribución.

A.A. no se pertenece a ninguna secta política, ni religiosa, ni a organizaciones ni instituciones alguna. No desea interferir en ninguna controversia, ni tampoco apoyar o combatir otras causas. Nuestra independencia es mantenida sobria y Ayudar a otros alcoholicos a alcanzar el estado de sobriedad.

**MOVIMIENTO INTERNACIONAL**  
**24 HORAS**

**ALCOHÓLICOS ANÓNIMOS**  
**GRUPO LATACUNGA**

Dir.: Calle Loja y Anaya, Cda.: El Chofre  
Telf.: 0992850183

**SERVICIOS GRATUITOS**

**¿ES ALCOHÓLICO ANÓNIMOS PARA USTED?**

**SEPÁSE BIEN**

Que en el **ALCOHOLISMO** es un **ENFERMEDAD** que un **ALCOHÓLICO** (o **BEBEDOR PROBLEMA**) es un enfermo no es un vicioso degenerado. **ALCOHÓLICO** es todo aquel que se crea problemas cuando entra en contacto con el alcohol, que un **ALCOHÓLICO** no tiene precisamente que haber bebido todos los días, ni haber tenido accidentes de tránsito, ni haber perdido el empleo, ni haber estado en la cárcel, ni haber destruido un hogar, ni haber cometido un acto delictivo debido a una embriess alcoholica, ni haber perdido dinero para tragos, ni haber sufrido Deltium Status, ni haberse muerto de una intoxicación alcoholica o una cirrosis hepática.

**"PERO, SEPÁSE TAMBIÉN, QUE LA ENFERMEDAD ES PROGRESIVA Y QUE LO QUE NO NOS HA SUCEDIDO HASTA HOY NOS PUEDE SUCEDER MAÑANA... SI SEGUIMOS BEBIENDO"**

**NÓS LO DICE LA EXPERIENCIA**

Y la organización mundial de la salud, afirma **EL ALCOHOLISMO ES UNA ENFERMEDAD PROGRESIVA, INCURABLE Y MORTAL.**

**AUTODIAGNOSTICO**

Es para uso estrictamente personal o confidencial. Ud. No tiene que mostrarlo a nadie.

Estas preguntas hace la universidad John Hopkins interesado si que determine si **TIENE O NO TIENE** problemas con la bebida.

Si **UNA** pregunta es contestada afirmativamente no es un bebedor problemático, pero con el tiempo pueden llegar a serlo. Si contesta **SI a dos preguntas**, tienes muchas posibilidades de llegar a convertirse en un bebedor problemático, quien contesta **SI a TRES o más preguntas**, es positivamente un bebedor problemático o alcoholico, y bien puede decirse que es su propio diagnóstico reservado.

**PARA EL** Alcohólicos Anónimos es ofrece una eficaz solución a su problema; si anhela el deseo de dejar de beber.

Le sugerimos conteste honestamente.


No trate de engañarse.

- 1.- ¿Puedo pensar de mi tiempo de trabajo debido a la bebida?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 2.- ¿Causa la bebida desórdenes en la vida de mi hogar ?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 3.- ¿Bebo porque siento timidez en mi trato con otras personas?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 4.- ¿Esta afectando la bebida mi reputación?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 5.- ¿Has sentido gran retardamiento despues de una borrachera?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 6.- ¿Me cobro con bajas compañías y acudo a malos ambientes cuando bebo?  
¿SI, ? o ¿NO, ?

- 7.- ¿Me he visto en apuros de dinero como resultado de la bebida?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 8.- ¿Hace la bebida que descuido el bienestar de mi familia?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 9.- ¿Han pasado mis aspiraciones desde que bebo?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 10.- ¿Me emborracho a veces en momentos importantes precisamente cuando tengo algo que hacer?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 11.- ¿Apeleco un trago ciertas horas de día?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 12.- ¿Me hace falta un trago al día siguiente de una borrachera?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 13.- ¿Me causa dificultad la bebida para dormir?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 14.- ¿Esta la bebida perjudicandome en mi trabajo o negocio?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 15.- ¿Debo pens escapar de preocupaciones?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 16.- ¿Ha destruido mi eficiencia en el trabajo desde que bebí?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 17.- ¿Debo odio?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 18.- ¿He perdido completamente la memoria en ciertos momentos debido a la bebida?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 19.- ¿He tenido que verme alguna vez con el médico por motivo de la bebida?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 20.- ¿Bebo para reforzar la confianza en mi mismo?  
¿SI, ? o ¿NO, ?
- 21.- ¿He tenido de recluime en algún hospital o en mi propio hogar como resultado de la bebida?  
¿SI, ? o ¿NO, ?



# ANEXO N°7.- INSERTO UTILIZADO PARA LA DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12



**Monobind Inc.**  
Lake Forest, CA 92633, USA

**AccuBind**  
ELISA Microwells

Sistema de Prueba Vitamina B-12 (B12)  
Código de producto: 7625-300

**1.0 INTRODUCCIÓN**

Este Producto: Determinación cuantitativa de la concentración de Vitamina B-12 en suero humano mediante un inmunoensayo enzimático en microplaca.

**2.0 RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA**

La Vitamina B-12 es una de las nueve vitaminas hidrosolubles importantes para el buen funcionamiento corporal. Es el más importante de la vitamina B12 en el cuerpo es la formación de las células rojas y la formación de las células de médula espinal de los nervios. Estos efectos son vitales en los sistemas corporales con una amplia gama de funciones, los síntomas de la deficiencia de vitamina B12 puede llegar a ser anémico. Una deficiencia puede también tomar meses o años para manifestarse dependiendo de la causa y severidad.

Uno de los síntomas más comunes de deficiencia de vitamina B12 son causados por la dieta y por el estrés. Debido a que las mayores fuentes en la dieta de vitamina B12 provienen de los animales, los vegetarianos que no toman un suplemento vitamínico serán más propensos a la deficiencia de vitamina B12. Los adultos mayores también tienen más riesgo de sufrir de deficiencia de vitamina B12, pero también por la menor absorción intestinal del sistema digestivo.

El consumo de la vitamina B12 comienza por ingestión y luego por digestión por medio de la saliva. Una vez llega al intestino, la vitamina B12 se une a las proteínas en la comida y así liberadas por los ácidos presentes. La vitamina B12 puede entonces unirse al factor intrínseco (IF). Una vez unido al IF, la vitamina B12 es absorbida permitiendo viajar dentro de los intestinos donde puede ser liberada dentro del cuerpo debido a la asociación con el IF.

Una vez liberada puede ser almacenada en el hígado y en los tejidos de Vitamina B12 y la deficiencia de fósforo en malabsorción CoA (BMA) y Homocisteína (Hcy). Ambas deficiencias son reconocidas por síntomas similares, sin embargo aunque este la causa raíz de cualquier síntoma que acompañe una deficiencia de Vitamina B12. Alas Huelas de estos dos análisis en el momento siguientes causas un incremento en el estado oxidativo celular causando así una apoptosis acelerada. Los resultados de enfermedad vascular en forma de arteriosclerosis, enfermedad coronaria y/o neurodegeneración (ej. Enfermedad de Parkinson).

**3.0 PRINCIPIO**

**Inmunoensayo Enzimático Competitivo Retardado (ITPC)**

Los reactivos esenciales requieren para un inmunoensayo enzimático incluyen antígeno, conjugado enzima-antígeno y antígeno nativo. Después de mezclar el antígeno nativo con el suero que contiene el antígeno, se debe esperar una reacción del antígeno y el antígeno. La intensidad es medida por la siguiente ecuación:

$$Ag + Ab_{total} \rightleftharpoons Ag + Ab_{libre} + Ag + Ab_{unida}$$

$Ab_{total}$  = Anticuerpo (cantidad constante)  
 $Ab_{unida}$  = Complejo enzima-antígeno-antígeno  
 $Ab_{libre}$  = Anticuerpo liberado que no reacciona en la primera incubación  
 $K_d$  = Tasa Constante de Asociación  
 $K_d'$  = Tasa Constante de Disociación  
 $K_d = K_d'$  = Constante de equilibrio

Ocurre una reacción análoga entre la biotina adherida al antígeno y la biotina liberada en el suero antes de la lectura.

Este efecto de la separación de la reacción evita el antígeno liberado de la detección o aspiración.

$Ag + Ab_{total} \rightleftharpoons Ag + Ab_{libre} + Ag + Ab_{unida}$

$Ab_{total}$  = Anticuerpo (cantidad constante)  
 $Ab_{unida}$  = Complejo enzima-antígeno-antígeno  
 $Ab_{libre}$  = Anticuerpo liberado que no reacciona en la primera incubación  
 $K_d$  = Tasa Constante de Asociación  
 $K_d'$  = Tasa Constante de Disociación  
 $K_d = K_d'$  = Constante de equilibrio

Ocurre una reacción análoga entre la biotina adherida al antígeno y la biotina liberada en el suero antes de la lectura.

Este efecto de la separación de la reacción evita el antígeno liberado de la detección o aspiración.

$Ag + Ab_{total} \rightleftharpoons Ag + Ab_{libre} + Ag + Ab_{unida}$

$Ab_{total}$  = Anticuerpo (cantidad constante)  
 $Ab_{unida}$  = Complejo enzima-antígeno-antígeno  
 $Ab_{libre}$  = Anticuerpo liberado que no reacciona en la primera incubación  
 $K_d$  = Tasa Constante de Asociación  
 $K_d'$  = Tasa Constante de Disociación  
 $K_d = K_d'$  = Constante de equilibrio

Ocurre una reacción análoga entre la biotina adherida al antígeno y la biotina liberada en el suero antes de la lectura.

Este efecto de la separación de la reacción evita el antígeno liberado de la detección o aspiración.

**4.5 REACTIVOS**

**Materiales suministrados:**

**A. Calibradores de Vitamina B-12 - 1ml/vial - Iconos A-F**

Siete (7) viales de sérum humano de referencia para Vitamina B-12 en concentraciones de 0 (A), 100 (B), 200 (C), 400 (D), 1000 (E), y 2000 (F) en pg/ml. Almacenar de 2-8 °C.

Un preservante ha sido adicionado. Los calibradores pueden ser expresados en concentración molar (pM), multiplicados por 0,738. Por ejemplo: 100 pg/ml = 0,738 = 73,8 pM/L.

**B. Reactivo de Enzima Vitamina B-12 - 6,0 ml / vial**

Un (1) vial de Vitamina B-12 (enzima) - paracetamol de Vitamina (B12) en una matriz proteica estabilizada. Almacenar de 2-8 °C.

**C. Reactivo Vitamina B-12 Biotina - 6,0 ml - Icono V**

Un (1) botella de reactivo que contiene conjugado IgG de conejo purificado biotinilado anti-Vitamina B-12 en Buffer, colorante azul y conservante. Almacenar de 2-8 °C.

**D. Placa recubierta con Streptavidina - 96 pozos - Icono U**

Una microplaca de 96 pozos recubierta con 1,0 µg/ml streptavidina y almacenada en una bolsa de aluminio con un agente desecante. Almacenar de 2-8 °C.

**E. Solución de lavado concentrado - 30ml - Icono L**

Un (1) vial que contiene un surfactante en Buffer de solución salina. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar de 2-8 °C.

**F. Reactivo Sustrato - 12ml/vial - Icono R**

Un (1) vial con contenido de tetrametilbenzidina (TMB) y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en Buffer. Almacenar de 2-8 °C.

**G. Solución de parada de la reacción - 8ml/vial - Icono P**

Un (1) vial que contiene un ácido fuerte (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Almacenar de 2-30 °C.

**H. Agente de liberación - 12 ml/vial Icono I**

Un vial (1) contiene una base fuerte (hidróxido de sodio) y cloruro de potasio.

**L. Agente estabilizante - Icono II**

Un vial (1) contiene solución de bicarbonato (DTT)

**J. Buffer de Neutralización - 7 ml/vial NZ**

Un (1) vial contiene tofur que reduce el pH de la extracción de la muestra.

**K. Instrucciones del producto.**

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

**Nota 2:** Evite la exposición prolongada al calor y a la luz. Los reactivos sólidos son estables por semana (90) días cuando son almacenados a 2-8°C. La estabilidad del RR y sus componentes están identificados en la etiqueta.

**Nota 3:** Todos los reactivos vienen para una microplaca de 96 pozos.

**4.1 Materiales requeridos que no se suministran:**

1. Placa de 96 pozos y 100µl con una precisión mayor a 1,5%.
2. Dispensadores de 0,100ml y 0,200ml con una precisión mayor a 1,5%.
3. Dispensador de volúmenes ajustable (200 - 1000µl) para el conjugado.
4. Lavador de microplaca o una botella lavadora (opcional).
5. Seguridad de mano (guantes) de absorción de absorción de longitud de onda de 450nm y 620nm.
6. Papel absorbente para el secado de los pozos de microplaca.
7. Envoltura de plástico o cubierta de microplaca para los pozos de incubación.
8. Aspirador de vacío (opcional) para los pozos de lavado.
9. Cronómetro.
10. Materiales de control de calidad.

**5.0 PRECAUCIONES**

**Para uso Diagnóstico de Vito**

No usar en humanos a animales en Icono interno externo

Todos los productos que contienen virus humano, han sido diseñados para no haberlos por antigénos de superficie de hepatitis B, VIH 1 y 2 y HCV según pruebas hechas por la FDA. Debido a que ninguna prueba conocida hasta ahora puede eliminar una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, los productos de suero humano deben almacenarse como potencialmente peligrosos y en condiciones de transporte enfermedades. Los buenos procedimientos de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades Instituto Nacional de Salud, "Seguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", Dos Edición, 1988, HHS Publicación N° (CDC) 88-6305.

La eliminación segura de los componentes del kit debe realizarse de acuerdo a la regulación local y a los requerimientos estatales.

**5.1 RECOLECCIÓN DEL ESPECIMEN Y PREPARACION**

Las muestras deben ser sangre, suero o plasma heparinizado y se requieren que se tomen las precauciones habituales para la toma de muestras de suero o sangre por punción venosa. Para lograr una comparación precisa a valores normales establecidos, se debe tomar una muestra de suero o plasma en ayunas. La muestra debe ser recolectada en tubo para punción venosa base roja sin activar o anti-coagulantes para suero o tubo con heparina para plasma. Cerrar que la sangre se coagule para las muestras de suero. Centrifugar la muestra para separar el suero o plasma de las células.

Las muestras pueden ser refrigeradas a una temperatura de 2-8°C por un período máximo de cinco (5) días. En caso de que la muestra no se pueda analizar dentro de este tiempo, puede ser almacenada a temperatura de -20°C hasta por 30 días. Evite la congelación y descongelación repetidas. Cuando se realicen análisis por duplicado, se necesitan 0,000ml de la muestra.

**7.0 CONTROL DE CALIDAD**

Cada laboratorio asignará los controles a niveles de inferior, medio y mayor nivel para el monitoreo del desempeño del análisis. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba

**6.0 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

**1. Buffer para Lavado**

Dejar los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionada en un contenedor de almacenamiento adecuado. El buffer diluido debe ser almacenado a temperatura ambiente (20-27°C) hasta por 90 días.

**2. AGENTE DE LIBERACIÓN**

Adicionar una solución de agente estabilizante con el fin de preparar una solución 1:10 (agente estabilizante/agente liberador). Por ejemplo, para preparar 400 µl (4 ml), adicionar 100 µl de agente de estabilización para 300 µl de agente de liberación.

**3. EXTRACCIÓN DE MUESTRA**

Obtener los tubos suficientes para la preparación de todas las muestras de pacientes, controles, y suero de referencia. Dispensar 0,10 ml (100µl) de cada muestra dentro de los tubos de prueba individuales. Pipetear 0,200 ml (200 µl) de buffer de liberación a cada tubo de prueba, agitar después de cada adición. Permitir que la reacción se efectúe durante 15 minutos. Al final de los 15 minutos, dispensar 0,200 ml (200 µl) de buffer de neutralización, agitar después de cada adición y finalizar la extracción.

**Nota 1:** No use el sustituto de trabajo si está en el color azul.

**Nota 2:** No use los reactivos que estén contaminados o que tengan crecimiento bacteriano.

**5.0 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA**

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

**El procedimiento de la prueba deben ser desarrollado por personas expertas o profesionales acreditados.**

1. Mezclar los pozos de microplaca para cada suero de referencia, control y muestra a utilizar por duplicado. **Quitar cualquier tubo de microplaca no utilizada en la tabla de ubicación, sellar y almacenar a temperatura de 2 a 8 °C.**
2. Pipetear 0,050 ml (50µl) de calibrador de vitamina B12 estándar apropiadamente, control o muestra dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0,050 ml (50µl) de Reactivo de Vitamina B-12 Biotina a todos los pozos.
4. Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar.
5. Cubrir e Incubar durante 45 minutos a temperatura ambiente.
6. Adicionar 0,050 ml (50µl) de Reactivo Enzimático de Vitamina B-12 a todos los pozos. **Directamente en la parte superior añadir los reactivos dispensados en los pozos.**
7. Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar.
8. Cubrir e Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.
8. Desecar el contenido de la microplaca mediante desecación o aspiración. Si se realiza decantación, secar la placa con papel absorbente.
10. Adicionar 35µl de Buffer de lavado (ver sección de Preparación de Reactivos, decantar (golpear y secar) o aspirar). Repetir dos (2) veces más para un total de tres (3) lavados. **No puede utilizar un lavador de placas automático o manual. Seguir las instrucciones del fabricante, para una correcta utilización. En caso de usarse una botella lavadora lavar cada pozo independientemente al orden (evitar las burbujas de aire) para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir dos (2) veces más.**
11. Adicionar 0,100 ml (100µl) de Reactivo de Sustrato a todos los pozos. Siempre añada los reactivos en el mismo orden con el fin de minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.

- NO QUITAR LA PLACA DESPUÉS DE ADOPTAR EL SUSTRATO.
12. Ajustar a temperatura ambiente durante veinte (20) minutos.
  13. Añadir 0.050ml (50µl) de Solución de parate a cada pozo y medir suavemente de 15 a 30 segundos. Siempre utilizar los reactivos en el mismo orden con el fin de reducir al mínimo las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
  14. Leer la absorbancia de cada pozo en 405nm (usando una longitud de onda de referencia 630-630nm). Los resultados deben leerse dentro de los treinta (30) minutos siguientes a la adición de la solución de parate.

**Nota:** Difer los números que sugieren concentraciones superiores a 2000 pg/ml 1.5 y 1:10 con el calibrador de Vitamina B-12 17' y re-procesar.

### 13.0 CÁLCULO DE RESULTADOS

Se utiliza una curva de datos respuesta para determinar la concentración de Vitamina B12 en muestras desconocidas.

1. Registrar la absorbancia obtenida a partir de la impresión del lector de microplaca como se indica en el Ejemplo 1.
2. Chequear la absorbancia para cada suero referencia duplicado frente a la correspondiente concentración de Vitamina B12 en pg/ml en papel gráfico lineal (no permitir los duplicados de los sueros de referencia antes de graficarlos).
3. Trazar la mejor curva a través de los puntos.
4. Para determinar la concentración de Vitamina B-12 de una muestra desconocida, utilizar la absorbancia promedio de los duplicados para cada muestra desconocida en el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección de la curva, y leer la concentración (en pg/ml) desde el eje horizontal del gráfico (los duplicados del valor desconocido pueden ser promediados, como se indica). En el siguiente ejemplo, el promedio de absorbancia (1.202) interseca la curva en la concentración de Vitamina B-12 (180 pg/ml) (ver Figura 1).

**Nota:** El software de reducción de datos diseñado para análisis ELISA puede ser usado para la reducción de datos. Si se utiliza un software, la validación del software debe ser realizada.

Muestra	Número		Abs (A)	Medio Abs (A)	Valor (pg/ml)
	1	2			
Cal A	A1	2.538	2.56	0	
	B1	2.533			
Cal B	C1	2.245	2.28	100	
	D1	2.325			
Cal C	E1	2.093	2.09	200	
	F1	2.099			
Cal D	G1	1.657	1.71	400	
	H1	1.761			
Cal E	I1	0.741	0.73	1000	
	J1	0.718			
Cal F	K1	0.338	0.32	2000	
	L1	0.328			
Paciente # 1	M1	1.388	1.466	836.5	
	N1	1.400			

\* Los datos presentados en la tabla es únicamente con fines ilustrativos y no deben utilizarse para calcular resultados.



**Nota:** Multiplicar los valores horizontales por 0.738 para convertir a pg/ml

### 11.0 PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

Con el fin de considerar válidos los resultados del ensayo, se deben cumplir las siguientes condiciones:

1. La absorbancia (OD) de calibrador "0" يجب estar ser 31.5.
2. Cuatro de cada seis grupos de control de calidad deben encontrarse dentro de los rangos presentados.

### 12.0 ANÁLISIS DE RIESGOS

Las hojas de seguridad (MSDS) y el Análisis de Riesgo de este producto están disponibles por requerimiento a [Monobind Inc](mailto:Monobind Inc).

#### 12.1 Desempeño del ensayo

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea sostenido en firme constante para resultados reproducibles.
2. El pipeteo de los reactivos no se adelantará más de 10 minutos para evitar deterioraciones.
3. No se deben emplear muestras altamente lipídicas, hemolizadas o coaguladas.
4. Si más de 1 placa se usada, se recomienda repetir la curva de datos respuesta.
5. La adición de la solución sueroa incluye una reacción química, la cual se detiene por la adición de la solución de parate. Por tanto, la adición de los sueros y la solución de parate deben adicionarse en la misma secuencia para evitar cualquier desviación durante la reacción.

#### 12.2 Lectura de datos

1. Las lecturas de datos deben verificarse. No leer el fondo de los pozos.
2. La falta de eliminar la solución sueroa adecuadamente en los pozos de suero o lavado por desviación puede resultar en una placa replicada y resultados labo.
3. Usar componentes del mismo lote. No mezclar los reactivos de diferentes lotes. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea sostenido en firme constante para resultados reproducibles.

4. Es esencial un pipeteo preciso y exacto así como seguir el tiempo exacto y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede traer resultados incorrectos.

10. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio todos los estándares necesarios apropiados, reglamentos y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.

11. Es importante cuidar todos los equipos, por ejemplo pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados, con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.

12. El análisis de riesgo - como lo requiere la directiva IVD 98/79/EC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind pueden ser solicitados vía e-mail: [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com)

### 13.0 Interpretación

1. Los mediciones y la interpretación de los resultados deben ser desarrollados por personal experto o profesionalmente entrenados.

2. Los resultados de laboratorio por sí solos son únicamente un aspecto para determinar el estado del paciente y no deben ser la única base para una decisión, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.

3. Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos fijados y requerimientos del ensayo.

4. Si los kits de prueba están almacenados, ya sea por medida de control de calidad o si los resultados son interpretados incorrectamente, Monobind no tendrá responsabilidad.

5. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se utilicen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.

### 13.0 RANGOS DE VALORES ESPERADOS

De acuerdo con los intervalos de referencia para una población adulta "normal", los rangos esperados para la Vitamina B-12 Accufind™ ELISA se detallan en la Tabla 1.

Población	µg/ml	pmol/l
Referencia normal	200-530	118-288
Adulto > 60 años	110-380	61-205

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un rango de valores que pueden ser esperados mediante un método determinado para una población de personas "normales" depende de una multitud de factores: la especificidad del método, la población probada y la precisión del método usado por el analista. Por estas razones, cada laboratorio dependerá del rango de valores esperados por el fabricante, solo hasta que se determine un rango propio utilizando el método con una población propia de la zona en la que está situado el laboratorio.

### 14.0 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

#### 14.1 Precisión

La precisión intra e interensayo del sistema de prueba Vitamina B-12 Accufind™ Microplaca EIA, fue determinada por el análisis de tres cuatros diferentes de grupos de suero control. El número, valores medios, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno de estos sueros control se presentan en las Tablas 2 y 3.

Muestra	N	X	s	C.V. %
Blanco	20	334.8	24.3	7.2%
Normal	20	494.9	17.6	3.6%
Alto	20	926.3	36.3	3.9%

Muestra	N	X	s	C.V. %
Blanco	18	374.8	48.3	12.7%
Normal	18	441.2	46.7	10.6%
Alto	18	915.1	39.4	4.2%

\* Según las mediciones realizadas en diez experimentos por duplicado en un período de diez días.

#### 14.2 Sensibilidad

El sistema de prueba Vitamina B12 Accufind™ microplaca EIA presenta una sensibilidad de 70.13 pg/ml. La sensibilidad se obtuvo mediante la determinación de la variabilidad del calibrador de suero 0 pg/ml y mediante el uso de la estadística de (50% de certeza) para calcular la dosis mínima.

#### 14.3 Exactitud

El sistema de prueba Vitamina B12 Accufind™ Microplaca EIA se comparó con un método de inmunodifusión de quimoluminiscencia. Se utilizaron muestras biológicas con niveles bajos, normales y altos de Vitamina B12 (los valores medianos eran 100 pg / ml = 1000 pg/ml). El número total de estas muestras fue de 65. La mejor ecuación de regresión y el coeficiente de correlación fueron calculados para este sistema EIA Vitamina B12 en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 4.

Método	Medida (X)	Análisis de la última Regresión Cuadrática	Coefficiente de Correlación
Este Método (Y)	1.28	Y = 10+0.085* (X)	0.979
Referencia (X)	148		

Si no se requiere rango entre este método y el método de referencia se ajustará por la precisión de los valores medios. La ecuación de regresión cuadrática y el coeficiente de correlación presentan una excelente concordancia entre los métodos.

#### 14.4 Especificidad

El porcentaje (%) de reactividad cruzada del ensayo de Vitamina B12 para sustancias seleccionadas fue evaluado mediante la adición de la sustancia de interferencia a una matriz

de suero en diversas concentraciones. La reactividad cruzada se calculó mediante la derivación de un ratio entre la dosis de la sustancia de interferencia con la dosis de Vitamina B12 necesaria para desplazar la misma cantidad de antígeno etiquetado.

Sustancia	Reacción cruzada
Biotina	< 0.003
Factor reumatoide	< 0.001
Colesterol	< 0.001
Ureaplasma	< 0.001
Hemoglobina	< 0.001

### 15.0 REFERENCIAS

1. Scott, C.F., M.D. *Analysis of Internal Medicine*, 1988, 158, 1289-1296.
2. Ginzler, R. *Chemical Society Reviews* DOI: 10.1039/c151136g
3. NRC, T.G. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 1999, 72, 293-294.
4. Sliemers, T.J. *Clinical Diabetes*, 2010, 28(2), 16-19.
5. Arbery, S.G. *Journal of Clinical Nutrition* 2008, 78, 3-6.
6. Farnett, M.P. *Neuroendocrinology*, 2008, 32, 248-249.
7. Liu, Y.H. *Aliment Pharmacol Ther*, 2003, 17, 429-432.
8. de Lisi, L.M.L., M.D., Ph.D. *Neurology*, 1988, 37, 315-318.
9. Lissauer, J.H. *Clinical Chemistry*, 1995, 41(7), 1031-1037.
10. Butler, C.G. *Family Practice*, 2000, 22(5), 375-381.
11. Tamarkin, T. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000, 5, 385-387.
12. *Text Reference Biochemistry for the Clinical Laboratory*, in *Textbook of Clinical Chemistry*, 3<sup>rd</sup> Ed., Burke, C.A., Ashwood, R.A., W.B. Saunders, Philadelphia, 1996, 1631.

Revisión: 8      Date: 11/11/11      DCO: NA  
Cat # 7629-006

Para Ordenes y Consultas, por favor contacte:

**Monobind Inc.**  
100 North Pointe Drive  
Lake Forest, CA 92530 USA

Tel: +1 949.351.2665 Email: [info@monobind.com](mailto:info@monobind.com)  
Fax: +1 949.351.2539 Web: [www.monobind.com](http://www.monobind.com)

Por favor visite nuestro página web para conocer más acerca de nuestros interesantes productos y servicios.



Copartner EU, Esdoornlaan 12, 3851 DE Maastricht, The Netherlands  
[www.copartner.eu](http://www.copartner.eu)

**ANEXO N° 8. AUTORIZACIÓN DEL CENTRO DE ALCOHOLICOS ANONIMOS 24 HORAS GRUPO LATACUNGA**

**MOVIMIENTO INTERNACIONAL ALCOHÓLICOS ANÓNIMOS 24 HORAS "GRUPO LATACUNGA"**

---

Latacunga 24 Agosto 2015

A petición de la señorita Magaly Esther Quispe Ramirez con CI 0503401853, estudiante de la Universidad Técnica de Ambato, el MOVIMIENTO INTERNACIONAL ALCOHÓLICOS ANÓNIMOS 24 HORAS "GRUPO LATACUNGA", HA DECIDIDO DAR LA APERTURA, para que la señorita lleve a cabo el tema propuesto que se titula "DETERMINACIÓN DE VITAMINA B12 Y SU RELACIÓN CON EL POLIMORFISMO DE CÉLULAS ROJAS EN PACIENTES ALCOHOLICOS", en el cual estamos dispuestos a colaborar en todo lo que le sea necesario.

Esperamos que este documento, sea utilizado de la mejor manera posible según le sea conveniente.

Atentamente



Sr. WILSON ROMERO



