

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA

Centro de Investigación en Nutrición y Salud

Maestría en Ciencias en Nutrición
Gen. 2010-2012

Artículo

Magnitud de respuesta inflamatoria de ferritina, proteína c-reactiva y alfa glicoproteína en la diarrea e infección respiratoria, en niños indígenas escolares de albergues de Oaxaca.

Alumna: Alejandra Guadalupe Contreras Manzano

COMITÉ:

DIRECTOR:

Dr. Salvador Villalpando Hernández.
Director del área de investigación Vigilancia de la Nutrición
Centro de Investigación en Nutrición y Salud

ASESORES:

Mtro. Armando García Guerra
Jefe del Departamento de transición nutricional del INSP
Centro de Investigación en Nutrición y Salud

Dr. Héctor Lamadrid Figueroa
Investigador en Ciencias Médicas D
Dirección de Estadística
Centro de Investigación en Evaluación y Encuestas

Av. Universidad 655, Cuernavaca, México. 62100

25/Febrero/2013

Resumen:

Introducción: Las infecciones más prevalentes en poblaciones de países en vías de desarrollo son la diarrea y las infecciones respiratorias agudas (IRA). Ante dichas enfermedades, la respuesta de fase aguda (RFA) libera diferentes citocinas que pueden predecir la secreción de las proteínas de fase aguda (PFAs). Las PFAs como la proteína C reactiva (PCR) y la alfa2-glicoproteína (AGP) comúnmente son utilizadas para identificar sujetos con inflamación o infección. La ferritina, además de ser un biomarcador de las reservas corporales de hierro, actúa como PFA durante la infección, por lo que sus concentraciones se encuentran elevadas produciendo una subestimación del estado de hierro en el individuo enfermo.

Objetivo: Comparar las concentraciones de las PFAs en respuesta a episodios de diarrea e infección respiratoria aguda (duración y síntomas) en una muestra de niños escolares.

Material y Métodos: Se visitaron en dos ocasiones obteniéndose datos de movilidad de los 14 días previos, así como muestras de sangre para medir PCR, AGP y ferritina en 640 niños en edad escolar del estado de Oaxaca. Los valores de las PFAs fueron transformados logarítmicamente. La comparación de las concentraciones de PFAs entre la diarrea e IRA se realizó con modelos de regresión lineal con efectos aleatorios ajustados por covariables y conglomerado.

Resultados: Un episodio de IRA produjo mayor respuesta en PCR que la diarrea (Razón: 1.56, $p=0.01$). Dos o más síntomas de IRA producen una mayor respuesta en PCR y AGP que la diarrea (Razones de medias geométricas: 2.79 y 1.23 respectivamente, $p<0.01$). La duración de 15 días o más de IRA se asoció con mayores concentraciones de PCR, AGP y ferritina en comparación con los niños sanos. (Razones de medias geométricas: 2.95, 1.19 y 1.34, respectivamente; $p<0.05$)

Conclusión: La IRA produjo mayor respuesta en proteínas de fase aguda en comparación con la diarrea, especialmente en las concentraciones de PCR.

Palabras clave: proteínas de fase aguda, diarrea, infección respiratoria aguda, depleción de hierro, ferritina, proteína c reactiva, alfa2-glicoproteína.

Introducción:

Las infecciones más prevalentes en niños de países en vías de desarrollo, como México son la diarrea y las infecciones respiratorias agudas (IRA),^{1, 2} ambas representan las principales causas globales de enfermedad y muerte en niños.³

Durante un episodio de infección el organismo produce una respuesta conocida como de fase aguda (RFA) durante la cual se suscita una activación de macrófagos y linfocitos, los cuales liberan en una etapa primaria citocinas de fase aguda como interferones (INF), interleucinas (generalmente IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8) y factor de necrosis tumoral (TNF).^{4, 5} Estas citocinas en una segunda etapa de la RFA actúan como mediadores de la síntesis de proteínas de fase aguda (PFAs) en el hígado, como son la proteína c reactiva (PCR), alfa-glicoproteína ácida (AGP), fibrinógeno, ferritina, entre otras.^{6, 7}

Durante la infección, la liberación de estas citocinas parece ser diferente de acuerdo al tipo de enfermedad, el tiempo de duración, los síntomas y el agente que lo causa.^{8, 9} Por ejemplo; se ha descrito que las infecciones bacterianas producen una respuesta de fase aguda mayor que las infecciones virales.^{10, 11} Un estudio en niños con gastroenteritis severa por rotavirus reportó incrementos significativos de IL-6 e INF- γ en comparación con los niños sin diarrea. Por otro lado, los niños con fiebre y más episodios de diarrea tuvieron mayor IL-6 y TNF- α que los niños sin fiebre y menos episodios de diarrea. En el mismo estudio, el número de evacuaciones y el vómito se asociaron negativamente con los niveles de IL-2 e INF- γ , respectivamente.¹²

En un estudio en niños mexicanos de 5 a 15 meses, niveles incrementados de INF- γ , TNF- α , IL-6 e IL-4 se asociaron con menor duración de infección por *Escherichia coli* enteropatógena y con mayor duración de infección por *Escherichia coli* enterotoxigénica.¹³ Del mismo modo, se ha reportado en un grupo de niños de 6 a 36 meses con infección respiratoria de origen viral, la IL-6 se correlacionó positivamente con la duración de la fiebre, y negativamente con el número de días de la IRA. Además, la IL-6 fue mayor en las IRA causadas por adenovirus e influenza en comparación con el enterovirus y el rinovirus.¹⁴ En algunas enfermedades respiratorias como el asma o la bronquiolitis, la IL-8 se encontró significativamente elevada.^{15, 16}

Las diferentes citocinas liberadas en la RFA en la diarrea y en las IRA pueden predecir diferencias en la secreción de las PFAs. La PCR y AGP, son PFAs comúnmente utilizadas para identificar sujetos con inflamación o infección agudas y estiman los incrementos en las concentraciones de ferritina, que además de ser un biomarcador de las reservas de hierro, actúa como PFAs durante la infección por lo que sus concentraciones se encuentran elevadas produciendo una subestimación del estado de hierro en el individuo enfermo.¹⁷

El objetivo de este estudio fue comparar la magnitud de la respuesta inflamatoria, medida por las concentraciones séricas de ferritina, PCR y AGP, en niños escolares indígenas que viven en albergues del Estado de Oaxaca que sufrieron episodios de diarrea o IRA en dos periodos de medición de un ensayo comunitario.

Material y Métodos:

Este trabajo es un análisis longitudinal secundario del ensayo comunitario “Efectividad del consumo de frijol biofortificado con hierro en humanos” realizado en 20 albergues indígenas en Oaxaca, México. Su objetivo fue observar el efecto de la biofortificación para reducir la anemia.

El cálculo del tamaño de muestra en el estudio original se determinó para observar cambios de 5 a 8 $\mu\text{g/L}$ en las concentraciones de ferritina y en hemoglobina de 9 a 15 g/dl en promedio después de 8 meses de intervención, en albergues con alta prevalencia de deficiencia de hierro y anemia.

Para éste estudio, se alcanzó un poder del 80% para detectar cambios en las concentraciones de las PFAs en ambas infecciones (PCR [0.79-1.26 mg/L], AGP [0.95-1.05 g/L] y ferritina [0.91-1.09 $\mu\text{g/L}$].

Población de estudio

En el estado de Oaxaca se localizan alrededor de 273 albergues en áreas rurales, cada uno ofrece educación primaria a aproximadamente 50 estudiantes por albergue. Para el estudio principal se eligieron 20 albergues con prevalencia de anemia entre el 15 y 25% medida por medio de la concentración de hemoglobina a través del fotómetro portátil *Hemocue*. Los albergues fueron de diferentes regiones de Oaxaca, 10 albergues fueron asignados aleatoriamente a la intervención y 10 sirvieron como control.

Muestra seleccionada para el presente estudio

La muestra total para nuestro estudio fueron 640 niños en edad escolar de los cuales 585 tuvieron una observación de morbilidad al principio y otra al final de la intervención. A estos niños se les hicieron mediciones de talla con un estadímetro (Dynatop con precisión de 1 mm: Dynatop Co, México D.F) y de peso con balanzas electrónicas (Tanita con precisión de 100 g; Tanita LTD, Tokio, Japón), utilizando procedimientos estandarizados de Lohman y col.¹⁸, la variabilidad de las mediciones fue evaluada con la metodología propuesta por Habicht y col.¹⁹ Con la información de peso y talla se calcularon indicadores antropométricos del estado de nutrición creación de variables antropométricas (puntaje z de IMC para la edad, peso para la talla, talla para la edad).

Mediciones

Durante las dos visitas se les tomó una muestra de sangre venosa que fue centrifugada, almacenada en criotubos y congeladas inmediatamente en tanques de nitrógeno líquido hasta su entrega en el laboratorio de nutrición del Instituto Nacional de Salud Pública en Cuernavaca, Morelos, México. Las concentraciones séricas de ferritina fueron medidas por estuches comerciales, (Dade Behring Inc, Newark, DE 19714, U.S.A.), las de alfa2-glicoproteína ácida (Ramko, Tarzana Calif) por método de ELISA y las de proteína C reactiva (PCR) por nefelometría usando anticuerpos monoclonales (Behring Nephelometer 100 Analyzer, Behring Laboratories, Messer Griseheim GmbH, Frankfurt, Germany).

A las madres o a los encargados del cuidado del niño en el albergue se les aplicaron cuestionarios sobre datos personales, composición familiar, el consumo de alimentos, suplementos y medicamentos así como un cuestionario sociodemográfico. En un cuestionario separado se inquirió sobre la ocurrencia de enfermedades, duración y síntomas durante los 14 días previos a la visita. Las preguntas referentes a las enfermedades incluían la presencia de diarrea, infecciones respiratorias agudas (IRA) y fiebre sola, así como los síntomas que presentó durante la enfermedad y cuántos días duró enfermo. La diarrea según la OMS se define como el aumento en el número habitual de evacuaciones con disminución de la consistencia²⁰, e IRA como la presencia de enrojecimiento de la garganta, tos, fiebre, con o sin dificultad respiratoria.²¹ La presencia de diarrea o IRA se definió de acuerdo al reporte de infección en los 14 días previos al día que se aplicó el cuestionario. La presencia de síntomas se definió cuando se reportaron dos o más síntomas durante la infección.

Aspectos éticos

El proyecto principal contó con la autorización de la Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (CDI) en la Ciudad de México. Se obtuvo el consentimiento informado de los padres que aceptaron participar y los niños dieron su asentimiento escrito. El protocolo fue revisado y aprobado por los comités de Investigación, Ética y Bioseguridad del Instituto Nacional de Salud Pública, México.

Análisis estadístico

Valores aberrantes para peso y talla fueron excluidos del análisis (1% de las observaciones de peso, 1.3% de las de talla), no fue excluido ningún valor de las PFAs (valores máximos para PCR; 91.2 mg/L, AGP; 2.58 g/L y ferritina; 212 µg/L).

Debido a que las concentraciones de las PFAs no se distribuían normalmente, fueron transformadas logarítmicamente para su análisis. Los síntomas reportados durante la infección se consideraron como una variable dicotómica, ésta se definió como “1” cuando el número de síntomas fue o igual o mayor a dos [2-6 para la IRA, 2-12 para la diarrea] y “0” en otro caso. La duración del episodio de infección en días se analizó como una variable continua y como una variable categórica (Diarrea 1, 2, 3, 4-8, >9 días), IRA (1, 2, 3, 4-7, 8-14 y >15 días). Una concentración elevada de la PCR se definió cuando sus valores se encontraron por arriba de 5 mg/L y para la AGP mayores de 1 g/L.^{22, 23} La depleción de hierro se definió como ferritina <20 µg/L.¹⁷

Las variables de ajuste para el análisis fueron el grupo de *intervención* al que había pertenecido en el ensayo original, la *etapa* basal o final, el *conglomerado* que incluía a los 20 albergues a los que asistían los niños, el sexo, el puntaje z de IMC y las concentraciones de hemoglobina.

Se estimaron las diferencias de medias y proporciones de las características de los niños entre las etapas basal y final por medio de modelos de regresión lineal y logística respectivamente, ajustados por conglomerado. Para comparar la elevación de las concentraciones de las distintas PFAs se ajustaron modelos de

regresión lineal múltiples de efectos aleatorios ajustados por covariables para cada grupo de infección, en donde las variables dependientes fueron los logaritmos de las PFAs y las independientes: 1) la presencia de infección (sí, no), 2) los síntomas durante la infección (≥ 2 síntomas, < 2 síntomas) y 3) los días de duración del episodio (continua).

Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico STATA versión 12 (Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP). Para la creación de variables antropométricas se utilizó el programa Anthro Plus de la OMS.²⁴

RESULTADOS

La edad basal promedio fue de 9.4 ± 1.7 años, peso de 27.3 (7.1) kg y talla de 125 (10.7) cm. De los 640 niños que se colectaron, 30.8% tuvieron IRA en la etapa basal y 16.9% en la final ($p=0.004$). En cambio, la incidencia de diarrea no fue diferente entre ambas etapas (2.3% y 5.0%, respectivamente). La prevalencia de diarrea (0%-26%) e IRA (0-67%) fue estadísticamente diferente por albergue al que pertenecían los niños. De acuerdo a los puntajes z para los indicadores antropométricos, el 29.5% tuvieron talla baja en la etapa basal y 28.2% en la final, el 8.4 y 6.5% bajo peso y el 2.4 y 2.6% exceso de peso en cada etapa respectivamente y no se encontraron diferencias significativas. (Tabla 1)

La tabla 2 muestra la proporción de niños con concentraciones elevadas de cada proteína de fase aguda por grupo de infección y clasificados con depleción de las reservas de hierro medida por las concentraciones de ferritina. Se observa que la proporción de niños con elevación en la PCR se encontró de 0 a 3.8% entre los

grupos de infección, la elevación en la AGP en 7.7 a 10% y de PCR y AGP de 0.5 a 10.3%, la proporción de elevación en las PFAs no fueron diferentes en los grupos de infección en comparación con el grupo de referencia excepto en los niños con elevación en la PCR y AGP simultáneamente, en los cuales fue significativamente mayor en aquellos que tenían ambas infecciones (10.3%) en comparación con el grupo de referencia (2.4%) (Tabla 2).

La tabla 3 muestra el efecto ajustado de episodio, síntomas y duración de diarrea e infección respiratoria en las concentraciones de PCR, AGP y ferritina. El episodio de diarrea no se asoció significativamente con ninguna de las PFAs. Para el episodio de IRA se observa que las concentraciones de PCR fueron 31.7% más altas que los niños que no tuvieron episodio de IRA ($p=0.001$). Al comparar el episodio de IRA con el de diarrea, la PCR fue 57% más alta en la IRA que en la diarrea ($p=0.012$).

No hubo asociación entre tener dos o más síntomas de diarrea y ninguna de las proteínas de fase aguda. Haber presentado 2 o más síntomas de IRA se asoció con 80.6% más PCR y 14.4% más AGP que los que no reportaron síntomas de IRA ($p<0.01$). Al comparar el efecto de los síntomas de la diarrea con los de la IRA se encontró que las concentraciones de PCR son 180%, y las de AGP 23.3% más altas en aquellos que presentaron 2 o más síntomas de IRA en comparación con los que tuvieron 2 o más síntomas de diarrea. ($p<0.01$)

Al analizar el efecto de cada día de infección en las concentraciones de PCR, las concentraciones de PCR y AGP no se asociaron con la diarrea, en el caso de la ferritina, ésta fue 3% más alta con cada día adicional de diarrea ($p=0.055$)

Por otro lado, las concentraciones de PCR fueron 3.7% más altas con cada día adicional de IRA ($p < 0.001$), no se encontraron asociaciones significativas para la AGP y la ferritina. La respuesta en las PFAs por cada día adicional de infección no fue significativamente diferente en la diarrea en comparación con la IRA. (Tabla 3)

La tabla 4 muestra el efecto de la infección por categorías de duración de la diarrea y de la IRA. Se observa que ninguna de las categorías de duración de la diarrea se asoció con una respuesta en las PFAs ajustando por sexo, edad, IMC, hemoglobina y conglomerado.

Se encontró que las concentraciones de PCR son menores en aquellos niños con 1 día de IRA en comparación con los niños sin infección ($p = 0.025$), y que de 4 a 7 días de duración de IRA las concentraciones de la PCR son 52.6% mayores que en los niños sanos ($p = 0.001$). En aquellos niños en los que el número de días con IRA fue de 15 días o más, las concentraciones de las PFAs fueron significativamente mayores que en los niños sanos. (Tabla 4)

En relación a las covariables de ajuste, se encontró consistencia en los modelos para las variables de sexo, edad e IMC. El sexo femenino tuvo concentraciones mayores de PCR que el sexo masculino, la edad se asoció negativamente con las concentraciones de PCR y AGP, y el puntaje z de IMC se asoció positivamente con las concentraciones de PCR, AGP y ferritina. ($p < 0.01$)

En resumen, un episodio de IRA produjo mayor respuesta en PCR que la diarrea. Dos o más síntomas de IRA produjeron una mayor respuesta en PCR y AGP que

la diarrea y la duración de 15 días o más de IRA se asoció con mayores concentraciones de PCR, AGP y ferritina en comparación con los niños sanos.

DISCUSIÓN

Las publicaciones sobre la respuesta inmune en la diarrea y la infección respiratoria son pocas, hasta donde hemos explorado existen pocos estudios que han comparado la elevación de las proteínas de la respuesta de fase aguda en estas enfermedades.

Estudios anteriores, se ha observado una respuesta de fase aguda en episodios diarreicos tanto de etiología bacteriana como viral, la diarrea causada por bacterias se ha asociado con una mayor respuesta de fase aguda que la causada por virus, así como, una diferente expresión de citocinas inflamatorias.^{10-14, 16, 25, 26}

En un estudio realizado en niños hospitalizados de 1 mes a 14 años, casi la mitad de los niños con diarrea viral tuvieron las concentraciones de PCR por encima de los 10 mg/L, en cambio en la diarrea bacteriana la proporción de niños con PCR elevada fue el 86.4%.²⁷ Lin CH y col. encontraron que niños con diarrea bacteriana presentaron mayores niveles de PCR e IL-6 que la diarrea viral y que en los niños sanos.²⁸

Otros autores no han detectado elevación en la PCR durante la diarrea independientemente de su etiología. En el estudio de Brown y col.²⁹, en niños de 11 a 19 meses se encontró que síntomas como la anorexia y la fiebre se asociaron significativamente con mayores concentraciones de PCR y ferritina a diferencia de la diarrea donde no se observó asociación. En nuestros resultados no

encontramos elevación significativa de PCR ni AGP cuando la diarrea se analizó por episodio, síntomas y duración de la enfermedad. Suponemos que lo anterior pudo deberse a varias razones; una es que la etiología pudo ser prevalentemente de tipo viral y no produjo una respuesta de fase aguda significativa. A pesar de que no contamos con información sobre el agente enteropatógeno, se ha detectado que en México el rotavirus es una de las tres causas más comunes de diarrea en menores de 5 años, y junto con la *Escherichia Coli* enterotoxigénica, *Shigella*, *Salmonella* y *Campylobacter* abarcan el 70% de las causas de diarreas.³⁰⁻³²

En nuestros datos, la IRA produjo una respuesta de fase aguda tanto en la PCR como en la AGP, esto se ha documentado en estudios previos en los que se reporta un incremento en las concentraciones de las PFAs independientemente de la etiología de la IRA.³³⁻³⁵ Incluso se han propuesto puntos de corte para identificar la etiología de la infección por medio del incremento en PCR,³⁶ sin embargo, no se ha logrado definir si la PCR por sí sola permite distinguir la IRA bacteriana de la viral.³⁷⁻³⁹

Cabe mencionar que es posible que no se hayan encontrado asociaciones de las PFAs con la diarrea por otras razones diferentes a la liberación de citocinas y el agente causal como son las de temporalidad y el intervalo de elevación de las PFAs. En el caso de la PCR, ésta se eleva hasta 500 mg/L, su vida media en sangre es de 19 horas y sus concentraciones rápidamente caen al cesar el estímulo inflamatorio,⁴⁰ por lo cual el momento de la toma de muestra de sangre

para determinar la PCR es crucial respecto al momento de desarrollo de la enfermedad.

La recolección de datos de morbilidad incluyó catorce días previos a la entrevista, de tal manera que los niños que estaban en recuperación de diarrea ó IRA en estos días ya no presentaran elevación de las PFAs y fueron incluidos como infectados cuando ellos ya estaban recuperados. Esto pudo resultar en una reducción de la asociación entre la infección y la elevación en las PFAs, de modo que el efecto de cada infección podría haber sido mayor en las concentraciones de las PFAs y no haberse detectado especialmente en la diarrea por la menor duración del episodio en comparación con la IRA, y por el reducido tamaño de muestra, lo que nos impide hacer una mejor discusión.

Uno de los resultados más interesantes fueron que el mayor efecto de la IRA sobre la PCR se encontró en los sujetos con más de 15 días de infección y esto se asoció con una elevación en la ferritina del 34%, en cambio para la diarrea hubo efecto marginal sobre la PCR sólo cuando el episodio fue mayor de 9 días y no se asoció con un aumento en AGP ó en ferritina. Lo anterior concuerda con estudios que reportan el tiempo de elevación y permanencia en sangre de las concentraciones de las PFAs, así como los días que abarcó el reporte de la infección.^{7, 41}

Una limitación en nuestro estudio fue que el reporte de la infección dependió de la percepción de la madre o de los encargados del cuidado del niño por lo que posiblemente existieron errores en el diagnóstico de la enfermedad. No obstante,

el reporte del episodio de IRA fue un buen predictor de las elevaciones en la PCR, y el reporte de síntomas de la elevación en PCR y AGP (Tabla3). Recientemente Melbye, H. y col.⁴² publicaron que el autoreporte de síntomas de IRA en 6,325 personas de 38 a 87 años fue el segundo predictor independiente más fuerte de los valores de PCR donde el 10.5% de los sujetos tuvieron concentraciones por arriba del punto de corte para adultos (≥ 10 mg/L). En nuestros resultados el reporte de IRA se asoció con una elevación significativa de la PCR en el 8.8% de los niños, a pesar de que el reporte se realizó sobre los 14 días previos a la medición de las PFAs. Por lo anterior, posiblemente las verdaderas asociaciones de la infección con las concentraciones de las PFAs sean más fuertes que las estimadas por medio del reporte.

Como se mencionó anteriormente, durante la respuesta de fase aguda los linfocitos y macrófagos son responsables de la secreción de las citocinas, y éstas a su vez estimulan la producción de las proteínas de fase aguda en el hígado. Un estudio de Nájera y col. en niños mexicanos de 7 a 44 meses de edad sugiere que la diarrea requiere una respuesta inmune de linfocitos T más elaborada que la de la infección respiratoria, en su estudio se reporta que la diarrea se asoció a mayores concentraciones de CD8+, CD8+CD28- y CD4+CD62L- que los niños con IRA, en cambio, los niños con IRA tuvieron mayores niveles de CD4 que los niños con solamente diarrea ó con ambas infecciones.⁹ Nuestros resultados muestran que las elevaciones en PCR y AGP se reflejan en menor magnitud en la diarrea que en la IRA, sin embargo hacen falta estudios que comprueben estos hallazgos.

Nájera y col, reportaron al igual que otros estudios sobre la respuesta inmune que la desnutrición es un factor que influye en la adecuada respuesta inmune en la infección.^{43, 44} La prevalencia de desnutrición (talla baja y emaciación) en nuestro estudio no fue diferente entre los niños que tuvieron diarrea de los que tuvieron IRA, ni con el grupo de referencia (sin reporte de infección), por lo que no creemos que la diferencia encontrada en la respuesta de fase aguda entre la diarrea e IRA se haya debido a una depresión del sistema inmune asociada a la desnutrición.

En los últimos años se ha estudiado la utilidad de la PCR y AGP para identificar sujetos con inflamación o infección en estudios de nutrición,^{23, 29} principalmente en aquellos que evalúan el estado de hierro por medio de la ferritina.⁴⁵ Cabe mencionar, que en nuestros resultados la elevación en las concentraciones de ferritina se observó únicamente en la IRA cuando ésta se analizó por categorías de duración de la infección y cuando estuvo asociada a un incremento significativo en PCR y AGP, por lo que la importancia de medir ambas proteínas para estimar el efecto de la infección en las concentraciones de ferritina se reitera con nuestros resultados.

Conclusión

Nuestros datos sugieren que la IRA produce mayor respuesta de fase aguda en comparación con la diarrea, especialmente en las concentraciones de PCR. Hacen falta más estudios que evalúen la respuesta de fase aguda en infecciones comunes como la diarrea y la IRA, primordialmente en estudios de nutrición donde la evaluación del estado de algunos micronutrientes como el hierro, zinc, cobre y

vitamina A requieren considerar la prevalencia de infecciones, la elevación en las PFAs y el tipo de enfermedad para determinar la sobre o subestimación de la prevalencia de deficiencia o depleción de micronutrientes debido a la infección.

Referencias bibliográficas

1. Stevens G DR, Thomas KJA, Rivera JA, Carvalho N, et al. Characterizing the epidemiological transition in Mexico: National and subnational burden of diseases, injuries, and risk factors. . *PLoS Med* 2008 5(6):e125.
2. Olaiz-Fernández G R-DJ, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Avila M, Sepúlveda-Amor J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. . *Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública*. 2006.
3. Madhu Ghimire YVPMKM. Community-based interventions for diarrhoeal diseases and acute respiratory infections in Nepal. Boletín de la OMS. Available at: <http://www.who.int/bulletin/volumes/88/3/09-065649.pdf> (visto el 20 de noviembre de 2012)
4. Heinrich P CJAT. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J*. 1990(265):621-623.
5. Koj A. From the Obscure and mysterious acute phase response to Toll-Like receptors and cytokine network. *Curr Immunol Reviews*. 2008(4):199-214.
6. Dinarello C. Interleukin-1. *Reviews of Infectious Diseases*. 1984;6(1):51-95.
7. Fleck A. Clinical and nutritional aspects of changes in acute phase proteins during inflammation. *Proceed Nutr Soc* 1989(48):347-354.
8. Edwards LA NK, Mills DC, Stephenson HN, Zilbauer M, et al . Delineation of the Innate and Adaptive T-Cell Immune Outcome in the Human Host in Response to *Campylobacter jejuni* Infection. . *PLoS ONE* 2010 5(11):e15398.
9. Nájera O GC, Cortés E, Toledo G, Ortiz R. . Effector T lymphocytes in well-nourished and malnourished infected children. *Clin Expl Immunol*. 2007; (148):501-506.
10. Gruys E. Review: Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ SCI B*. 2005;6(11):1045-1056.
11. Urbach J. RR, Branski D., Berliner S. Reduced acute phase response to differentiate between viral and bacterial infections in children. *Pediatr Pathol Mol Medi* 2002(21):557-567.
12. Jiang B DP, Keyserling H, et al. Cytokines as Mediators for or Effectors against Rotavirus Disease in Children. . *Clin Diagn Lab Immunol* 2003(10):995-1001.
13. Long K RJ, Santos J., Haas M. Associations between mucosal innate and adaptive immune responses and resolution of diarrheal pathogen infections. *Infect Immun* 2010 78 (3):1221-1228.
14. Patel J. NS, Revai K., Grady J. Chonmaitree T. . Nasopharyngeal acute phase cytokines in viral upper respiratory infection: impact on acute otitis media in children. . *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28(11):1002-1007.

15. Kim CK KS, Kim YK, Kang H, Yu J. . Bronchoalveolar lavage eosinophil cationic protein and interleukin-8 levels in acute asthma and acute bronchiolitis. *Clin Exp Allergy*. 2005;35(5):591-597.
16. Brand K. FG, Preijers F., de Groot R., Neeleman C., Staal FJ., Warris A. CD4+ T-cell counts, interleukin-8 and CCL-5 plasma concentrations discriminate diseases severity in children with RSV-infection. *Pediatr Res*. 2013;73(2):187-193.
17. UNICEF U, WHO. Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention and control. A guide for programme managers. *IDA Consultation, Geneva 1993. Geneva, Switzerland: World Health Organization*. 2001(WHO/NHD/01.3):1-114.
18. Lohman TGyc. Anthopometric standardization reference manual. 1988.
19. Habicht. JP. Standardization Procedures for Quantitative Epidemiologic Field Methods, Manual of Internationally Comparable Growth Studies in Latin America and the Caribbean. . *Pan American Health Organization, Washington DC* 1974;76:375-384.
20. WHO. Diarrhoea concept. Available at: <http://www.who.int/topics/diarrhoea/en/> (Visto el 20 de Noviembre de 2012).
21. WHO. Global surveillance, prevention and control of chronic respiratory diseases. 2007.
22. DeMaeyer EM. Preventing and controlling anaemia through primary health care: a guide for health administrators and programme managers. 1989:58. Available at: <http://www.who.int/gard/publications/GARD%20Book%202007.pdf> (Visto 20 Noviembre 2012)
23. Thurnham DI MG, Northrop-Clewes CA, Nestel P. Effect of subclinical infection on plasma retinol concentrations and assessment of prevalence of vitamin A deficiency: meta-analysis. . *Lancet*. 2003;362:2052–2058.
24. WHO. AnthroPlus Software for Assessing Growth and Development of the World's Children 2005.
25. Yeung CY LH, Lin SP, Fang SB, Jiang CB, Huang FY CC. . Serum cytokines in differentiating between viral and bacterial enterocolitis. *Ann Trop Paediatr*. 2004;24(4):337–343.
26. Liu LJ YY, Kuo PH, Wang SM, L. C. . Diagnostic value of bacterial stool cultures and viral antigen tests based on clinical manifestations of acute gastroenteritis in pediatric patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005 24(8):559–561.
27. Mangiarotti P MF, Palmer P, Ravilly S, Raymond J, G. D. Interferon-alpha in viral and bacterial gastroenteritis: a comparison with C-reactive protein and interleukin-6. *Acta Paediatr*. 1999;8(6):592–594.
28. Lin CH HC, Chen SJ, Wu TC. The diagnostic value of serum interleukins 6 and 8 in children with acute gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006;43(1):25–29.
29. Brown K LC, Yuen M, Peerson J, Butron B. . Potential magnitude of the misclassification of a population's trace elements status due to infection: example from a survey of young Peruvian children. *Am J Clin Nutr*. 1993;58:549-554.
30. Casanueva E K-HM. 2008:334.
31. Wilhelmi de Cal I MdPR, S.-F. A. . Rotavirus and other viruses causing acute childhood gastroenteritis. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008;26(13):61–65.
32. Larrosa-Haro A M-RR, Sánchez-Ramírez C a, Cortés-López MC, Aguilar-Benavides S. . Seasonal variation of enteropathogens in infants and preschoolers with acute diarrhea in western Mexico. . *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2010;51(4):534-536.
33. Chen LL CY. Mixed infections in children with Mycoplasma pneumoniae pneumonia. . *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. . 2012;50(3):211-215.

34. Kavanagh Ke OSE. A pilot study of the use of near-patient C-Reactive Protein testing in the treatment of adult respiratory tract infections in one Irish general practice. *BMC Fam Pract.* 2011;12:93.
35. Paxton J. BR. α 1 – acid glycoprotein concentrations and propranolol binding in elderly patients with acute illness. . *Br. J. Clin. Pharmac.* /1984;18:806-810.
36. Wander K BE, O’connor Ka. . Sensitivity and specificity of C-Reactive protein and α (1) -acid glycoprotein for episodes of acute infection among children in Kilimanjaro, Tanzania. *Am J Hum Biol.* 2012;24(4):565-568.
37. Ten Oever J TM. Combination of biomarkers for the discrimination between bacterial and viral lower respiratory tract infections. *J Infect.* 2012;65(6):490-495.
38. Engel MF PF, Hoepelman Al. Evaluating the evidence for the implementation of C-reactive protein measurement in adult patients with suspected lower respiratory tract infection in primary care: a systematic review. . *Fam Pract.* 2011;29(4):383-393.
39. Meer VVD NA, Assendelft WJJ. Primary care Diagnostic value of C reactive protein in infections of the lower respiratory tract : systematic review. . *BMJ.* 2005;331(7507):26.
40. Pepys MB HG. C-reactive protein : a critical update. *Clin Invest.* 2003;111(12):1805–1812.
41. Romette J. D, Charrel M. . Le syndrome inflammatoire et les modifications des proteines plasmatiques. . *Path Biol.* 1986;34(9):1006-1012.
42. Melbye H. AK. The Association between Self-reported symptoms of recent airway infection and CRP values in a general population. *Inflammation.* 2012;35(3):1015-1022.
43. D T. Micronutrients and immune function. Some recent developments. *J Clin Pathol* 1997;50(11):887-891.
44. Reid M BAFT. The acute phase protein response to infection in edematous and nonedematous protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 2002;76(1409-15).
45. Thurnham D. ML, Haldar S. . Adjusting plasma ferritin concentrations to remove the effects of subclinical inflammation in the assessment of iron deficiency: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2010;92:546-555.
46. Group. WMGRS. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. . 2006.

TABLAS

Tabla 1. Características basales y finales de los participantes del ensayo comunitario con frijol biofortificado con hierro¹.

Variable	n	Etapa		p	
		Basal Media (DE) ⁷	Final Media (DE) ⁷		
Edad (años)	640	9.4 (1.7)	9.9 (1.7)	<0.001	
Peso (kg)	633	27.3 (7.1)	29.1 (7.6)	<0.001	
Talla (cm)	629	125.6 (10.7)	128.5 (10.7)	<0.001	
Proteínas de Fase aguda³					
Proteína C reactiva (mg/L)	618	0.5 (3.4)	0.38 (3.6)	0.004	
Ferritina (µg/L)	618	28.4 (1.7)	34.2 (1.7)	<0.001	
Alfa-glicoproteína (g/L)	615	0.7 (1.4)	0.7 (1.3)	0.851	
		Proporción	Proporción		
Sexo (hombres)	640	47.2%	47.2%		
Intervención (frijol biof.)	640	47.5%	47.5%		
Grupos de Infección					
		Prevalencia	Prevalencia		
<i>Diarrea</i>	15	2.3%	5.0%	0.067	
<i>IRA²</i>	197	30.8%	16.9%	0.004	
<i>Fiebre</i>	27	4.2%	2.7%	0.284	
<i>Sin infección</i>	390	61.0%	74.7%	0.029	
Estado de Nutrición⁴					
Emaciación ⁵	29	8.4%	6.5%	0.308	
Talla baja ⁵	164	29.5%	28.2%	0.072	
Sobrepeso/obesidad ⁶	13	2.4%	2.6%	0.355	

¹Medias y desviación estándar (n=640)

² IRA, Infección respiratoria Aguda; PCR, proteína c reactiva; AGP; alfa glicoproteína ácida.

³Puntos de corte de la OMS para inflamación. PCR ≥ 5 mg/L y AGP ≥ 1 g/L.

^{4,5,6} Estándares de crecimiento de la OMS para niños de 5 a 19 años.⁴⁶

⁷Los valores para la PCR, AGP y ferritina son medias y desviaciones estándar geométricas.

⁸El valor p se obtuvo por modelos de regresión de efectos aleatorios ajustados por conglomerado.

Tabla 2. Proporción de niños con concentraciones elevadas de cada proteína de fase aguda por grupo de infección y de depleción de reservas de hierro.

Grupo de Infección	Estado de inflamación					
	PCR alta ¹		AGP alta ¹		AGP y PCR altas ¹	
	N	n (%)	N	n (%)	N	n (%)
Sin infección	781	18(2.3)	779	60 (7.7)	716	17 (2.4)
Sólo Diarrea	45	0 (0.0)	46	4 (8.7)	42	1 (2.4)
Sólo IRA ²	290	11 (3.8)	289	28(9.7)	262	12 (4.6)
Diarrea e IRA	40	1 (2.5)	40	4 (10.0)	39	4 (10.3)*
Depleción de Hierro	216	1 (0.5)	214	16 (7.5)	198	1 (0.5)

*Diferencia de proporción de elevación en la PCR y/o AGP y para la depleción de hierro (medida por ferritina) en los grupos de infección en comparación con el grupo de referencia (sin infección) $p < 0.05$

El valor p se obtuvo mediante modelos de regresión logística de efectos aleatorios.

¹Puntos de corte para inflamación. PCR ≥ 5 mg/L y AGP ≥ 1 g/L. Y para depleción de hierro < 20 $\mu\text{g/L}$ ¹⁵

²IRA: infección respiratoria aguda; PCR, proteína c reactiva; AGP; alfa glicoproteína ácida.

Tabla 3. Efecto de la diarrea e infección respiratoria en las concentraciones de PCR, AGP y ferritina.¹

Variables	Proteínas de Fase Aguda ²					
	PCR (mg/L) ³		AGP (g/L) ³		Ferritina (µg/L) ³	
	Razón	p	Razón	p	Razón	p
Episodio de diarrea	0.84	0.237	0.96	0.170	1.10	0.093
Episodio de IRA²	1.32	0.001	1.02	0.325	1.02	0.629
Diferencia IRA vs. Diarrea ⁵	1.57	0.012	1.07	0.108	0.92	0.243
Síntomas en la diarrea⁴	0.65	0.102	0.93	0.190	0.98	0.828
Síntomas en la IRA⁴	1.81	0.005	1.14	0.003	1.16	0.085
Diferencia IRA vs. Diarrea ⁶	2.80	0.004	1.23	0.007	1.19	0.226
Días de diarrea	1.02	0.634	1.00	0.784	1.03	0.055
Días de IRA	1.04	<0.001	1.00	0.068	1.01	0.168
Diferencia IRA vs. Diarrea ⁷	1.02	0.662	1.00	0.469	0.98	0.135

¹ Los modelos de regresión con efectos aleatorios fueron ajustados por sexo, edad, puntaje z de IMC, hemoglobina y albergue.

² IRA, Infección Respiratoria Aguda; PCR, proteína C reactiva; AGP, alfa-glicoproteína; P, valor p de significancia estadística; Razón, concentraciones de PFA de los sujetos con la infección/concentraciones de PFA de los sujetos sin infección.

³Los valores son razones de las medias geométricas de las proteínas de fase aguda en los niños con y sin infección y para cada variable de ajuste. La variable dependiente (PCR, AGP o ferritina) se transformó logarítmicamente.

⁴La variable categórica se definió como 1 si se reportó 2 o más síntomas y 0 cualquier otro valor.

⁵Observaciones: 1,030 para PCR, 1,029 para AGP y 1,031 para ferritina.

⁶Observaciones: 745 para PCR, 744 para AGP y 746 para ferritina.

⁷Observaciones: 1,030 para PCR, 1,029 para AGP y 1,031 para ferritina.

Tabla 4. Efecto de la infección por categorías de duración de diarrea e IRA en las concentraciones de PCR, AGP y ferritina.¹

Grupo de Infección	n	Proteínas de Fase Aguda ^e					
		PCR (mg/L)		AGP (g/L)		Ferritina (µg/L)	
		Razón	p	Razón	p	Razón	p
Diarrea²							
1 día	18	0.60	0.109	0.95	0.497	1.00	0.975
2 días	28	0.94	0.817	0.94	0.261	1.12	0.281
3 días	24	0.93	0.788	0.98	0.714	1.11	0.340
4-8 días	18	0.90	0.731	0.99	0.918	1.11	0.391
>9 días	3	4.06	0.097	1.22	0.288	1.44	0.307
IRA³							
1 día	15	0.44	0.025	0.87	0.083	1.03	0.852
2 días	64	1.29	0.126	1.02	0.583	1.07	0.341
3 días	77	1.15	0.352	1.01	0.715	0.95	0.424
4-7 días	130	1.53	0.001	1.01	0.672	1.05	0.352
8-14 días	47	1.20	0.352	1.02	0.662	0.94	0.448
>15 días	15	2.96	0.003	1.19	0.032	1.34	0.047

¹Los modelos de regresión con efectos aleatorios fueron ajustados por sexo, edad, puntaje z para el IMC, hemoglobina y albergue, donde la categoría de referencia fue no tener infección (n=844).

^ePCR, proteína C reactiva; AGP, alfa-glicoproteína; FER, ferritina; IRA, infección respiratoria aguda. Razón, concentraciones de PFA por cada día de infección/concentraciones de PFA en los niños sin infección.

²Observaciones para diarrea; 768 para PCR y AGP y 769 para ferritina.

³Observaciones para IRA; 992 para PCR, 990 para AGP y 993 para ferritina.