

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

TÍTULO

“RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINA A EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LOJA.”

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO.

AUTORA:

Daniela Johanna Alvarado Jaramillo

DIRECTORA:

Dra. Diana Alexandra Montaña Peralta, Mg. Sc.

LOJA – ECUADOR

2018

CERTIFICACIÓN

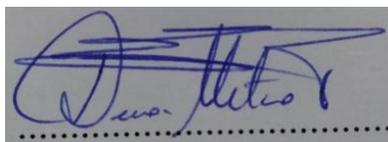
Dra. Diana Alexandra Montaña Peralta, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

Certifico que he procedido a revisar la tesis denominada: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINA A EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N°1 DE LOJA**, elaborada por la Sra. Daniela Johanna Alvarado Jaramillo, previa a la obtención del título de Lic. en Laboratorio Clínico, la misma que ha sido sometida a las revisiones y correcciones respectivas, de acuerdo a las normas establecidas en el reglamento de la Universidad Nacional de Loja, motivo por el cual me permito autorizar su presentación y defensa.

Loja, 17 de mayo del 2018

Atentamente,



Dra. Diana Alexandra Montaña Peralta, Mg. Sc.

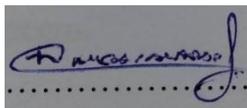
DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, **Daniela Johanna Alvarado Jaramillo** declaro ser autora del presente trabajo de investigación, así como todos los resultados, el diseño, conclusiones y recomendaciones obtenidas durante la realización del mismo, por tal razón eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales por el contenido de la misma.

Autora: Daniela Johanna Alvarado Jaramillo

Firma:

A rectangular box containing a handwritten signature in blue ink. The signature is cursive and appears to read 'Daniela Johanna Alvarado Jaramillo'. Below the signature, there is a horizontal dotted line.

Cedula: 1104746449

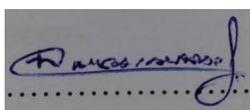
Fecha: Loja, 17 de mayo del 2018

CARTA DE AUTORIZACIÓN

Yo, **Daniela Johanna Alvarado Jaramillo** declaro ser autora de la tesis titulada: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINA A EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N°1 DE LOJA**, como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico; autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Digital Institucional de la siguiente manera:

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

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los 17 días del mes de Mayo del dos mil dieciocho, firma la autora.



Firma:

Autora: Daniela Johanna Alvarado Jaramillo.

Cédula: 1104746449

Dirección: Crisantemos e Ilusiones - Los Geranios.

E-mail: djalvaradoj@unl.edu.ec

Teléfono: 2-103739 **Celular:** 0981628796.

DATOS COMPLEMENTARIOS.

Directora de tesis: Dra. Diana Alexandra Montaña Peralta, Mg.Sc.

TRIBUNAL DE GRADO:

Presidenta: Dra. Sandra Elizabeth Freire Cuesta, Mg. Sc.

Vocal: Lic. María del Cisne Loján González, Mg. Sc.

Vocal: Dr. Vicente Ortega Gutiérrez, Mg. Sc.

AGRADECIMIENTO

A la **Universidad Nacional de Loja**, Facultad de la Salud Humana, carrera de **Laboratorio Clínico** por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

Al **Centro de Salud N° 1** y todos sus colaboradores por la apertura para poder realizar la recolección y procesamiento de las muestras necesarias para esta Investigación.

A mi directora de tesis, **Dra. Diana Montaña, Mg. Sc.**, por haber acompañado este proceso de investigación de manera acertada, con sus conocimientos, experiencia, paciencia y motivación permitieron la consecución de la presente investigación.

En forma muy especial me gustaría agradecer a la **Lic. Glenda Rodríguez, Mg. Sc.**, quien me brindo su ayuda y guía en el presente trabajo investigativo.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida universitaria, a las cuales estoy agradecida por su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo, otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han aportado para ir por el camino de la vida y por todas sus bendiciones.

Para todos ellos muchas gracias.

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a mi Señor Dios quien con su Espíritu de amor supo guiarme por el camino del bien, me brindo las fuerzas para seguir adelante, tomarme de la mano cuando quería abandonar mi rumbo, y enseñarme a encarar las adversidades y nunca desmayar.

A mi familia quienes con su apoyo me impulsaron a terminar esta bella carrera, a mis bellos hijos Isabela y Matías quienes día a día reflejan en mi vida ternura y cariño; motivo primordial para seguir adelante, a mi esposo Jhonatan por brindarme su amor y apoyo incondicional.

También quiero compartir esta inmensa felicidad con mis padres Ena y Alberto gracias por sus bendiciones, entrega y paciencia; a mis queridas hermanas Verónica, Gabriela y Paola gracias por compartir su vida conmigo y saber guiarme, a mis hermosos sobrinos gracias por su cariño, a mi querida prima Janeth Bustamante gracias por ser como una hermana y brindarme su apoyo incondicional.

A todos ellos muchas gracias y bendiciones.

ÍNDICE

CARÁTULA.....	i
CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA.....	iii
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
1. TÍTULO.....	1
2. RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
4.1. Lactosa.....	6
4.1.1. Definición.....	6
4.1.2. Metabolismo y absorción de la lactosa.....	7
4.1.3. Intolerancia a la lactosa.....	7
4.1.4. Déficit de lactasa.....	8
4.1.5. Causas y síntomas.....	9
4.1.6. Epidemiología.....	11
4.1.7. Respuesta Inmunológica.....	11
4.2. Métodos de diagnóstico para intolerancia a la lactosa.....	12
4.2.1. Azúcares reductores por el método de Fehling.....	14
4.3. Métodos de diagnóstico para cuantificar los niveles de séricos de Inmunoglobulina A.....	16
4.3.1. Método Inmunoturbidimétrico para cuantificar los niveles séricos de Inmunoglobulina A.....	17
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
6. RESULTADOS.....	21

7. DISCUSIÓN.....	24
8. CONCLUSIONES.....	27
9. RECOMENDACIONES.....	28
10. BIBLIOGRAFÍA.....	29
11. ANEXOS.....	34

1. TÍTULO

RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINA A EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA.

2. RESUMEN

La intolerancia a la lactosa se origina por el desequilibrio entre la cantidad de lactosa ingerida y la capacidad de la lactasa para hidrolizar el disacárido, ésta alteración se presenta con frecuencia, constituyéndose un problema de salud que va en aumento, el 50% de la población mundial padece de este trastorno digestivo y puede variar de una población a otra, los síntomas dependen de la cantidad de lactosa ingerida, y el grado de intolerancia, presentándose las primeras manifestaciones durante los primeros años de vida, más frecuentemente en el lactante menor. El presente estudio titulado **“Relación entre la presencia de intolerancia a la lactosa y los niveles séricos de Inmunoglobulina A en niños menores de dos años que acuden al Centro de Salud No 1 de Loja”**, tuvo como objetivo general establecer la relación entre la presencia de intolerancia a la lactosa y los niveles séricos de Inmunoglobulina A en niños menores de 2 años que presentaron diarrea. El estudio fue de tipo descriptivo, y corte transversal contó con una muestra de 95 pacientes, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión, en el periodo de noviembre 2016 a enero 2017; se les realizó la determinación de azúcares reductores por el método de Fehling obteniendo como resultado que el 33% de los pacientes presentaron intolerancia a la lactosa, y el 61% de estos por determinación con el método Inmunoturbidimétrico presentaron niveles séricos bajos de IgA, encontrándose directamente relacionados con la presencia de intolerancia a la lactosa. Finalmente se realizó la difusión de resultados obtenidos, al personal de salud y padres de familia de los niños participantes del estudio.

Palabras Clave: intolerancia a la lactosa, Inmunoglobulina A.

ABSTRACT

The Lactose intolerance is caused by the imbalance between the amount of lactose ingested and the ability of lactase to hydrolyse the disaccharide, this alteration occurs frequently, constituting a health problem that is increasing, 50% of the world population suffers from this digestive disorder and may vary from one population to another, the symptoms depend on the amount of lactose ingested, and the degree of intolerance, presenting the first manifestations during the first years of life, more frequently in the younger infant. The present study entitled "Relationship between the presence of lactose intolerance and serum levels of Immunoglobulin A in children under two years of age who attend Loja Health Center No. 1", had as its general objective to establish the relationship between the presence of Lactose intolerance and serum immunoglobulin A levels in children younger than 2 years who had diarrhea. The study was of a descriptive type, and the cross section included a sample of 95 patients, who met the inclusion criteria, from November 2016 to January 2017; the determination of reducing sugars was carried out by the Fehling method, obtaining as a result that 33% of the patients presented lactose intolerance, and 61% of these by determination with the Immunospectrometric method presented low serum levels of IgA, finding themselves directly related to the presence of lactose intolerance. Finally, the results obtained were disseminated to the health personnel and parents of the children participating in the study.

Key Words: lactose intolerance, Immunoglobulin A.

3. INTRODUCCIÓN

La intolerancia a la lactosa se origina por la insuficiencia de una enzima denominada lactasa, que es producida en el intestino delgado de los seres humanos; siendo incapaz de desdoblar la molécula de lactosa e impide la buena absorción y digestión de la misma, se presenta como un síndrome clínico determinado por la presencia de síntomas como dolor abdominal, diarrea, náuseas, flatulencia; los síntomas pueden variar en cada individuo dependiendo de la cantidad de lactosa ingerida, el grado de intolerancia y el tipo de alimento consumido, pudiéndose afectar la inmunidad mucosal en el niño ya que la IgA llega por la leche y lo protege de enfermedades de origen infeccioso, alérgico o metabólico (Arroyo & Alcedo, 2004).

La función de la IgA es de importancia en la prevención de las enfermedades alérgicas, debido a que se une a los antígenos que normalmente se ingieren en los alimentos bloqueando su paso al torrente circulatorio. El diagnóstico de la Deficiencia Selectiva de IgA se sospecha comúnmente por la existencia, ya sea recurrente o crónica, de infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes o diarrea crónica (Gomez, Danglot, & Vega, 2007).

La prevalencia de la intolerancia de la lactosa a nivel mundial varía ampliamente dependiendo principalmente del origen étnico. Los grupos más afectados en poblaciones cosmopolitas son los negros y africanos (95%); indios, americanos y asiáticos (80%), contrastando con la baja prevalencia que presentan los norteamericanos caucásicos y los europeos escandinavos (15%) (Infante, 2008).

Aproximadamente un 50% de los pacientes que padecen esta enfermedad presentan las primeras manifestaciones durante los primeros años de vida, además estudios realizados asocian a la intolerancia a la lactosa paralelamente con la edad, y hacen referencia a que no existen diferencias en la prevalencia entre uno y otro sexo (Izquierdo, 2011).

A nivel del Ecuador la intolerancia a la lactosa es un problema de salud del cual no existe mucha información, sin embargo un estudio aislado, realizado por el Instituto

Ecuatoriano de Enfermedades Digestivas y Pélvicas de Manabí (IECED), en 500 pacientes ha demostrado que el 50 % de la población investigada presentaba esta patología, así en el centro y en el sur del país es de hasta 33 %, en tanto que en el norte del país es tan sólo de 16 % (Lukashok, Loor, Robles-Jara, & Robles-Medranda, 2010).

Según datos compendiados de varios estudios realizados en poblaciones en edades pediátricas se obtuvieron diferentes porcentajes de la prevalencia de intolerancia a la lactosa, de los cuales se obtuvieron los siguientes resultados: México 77%; en Chile un 27% y en España 29 % (Terrés & Casas, 2002; Tocoian, 2006; Parra, Furió, & Arancibia, 2015).

Basándome en los datos anteriormente recopilados, la presente investigación denominada: **Relación entre la presencia de intolerancia a la lactosa y los niveles séricos de Inmunoglobulina A en niños menores de dos años que acuden al Centro de Salud No 1 de Loja**, realizada durante el periodo de noviembre 2016 a enero 2017, de tipo descriptivo y corte transversal, proyectó obtener datos actuales de la situación de la intolerancia a la lactosa en niños menores de dos años en nuestra localidad ya que no se cuenta con estudios recientes, teniendo como objetivos específicos: determinación de la presencia de intolerancia a la lactosa a través de la prueba de azúcares reductores y determinación de niveles séricos de IgA por el método Inmunoturbidimétrico en los pacientes que resultan positivos para azúcares reductores, correlacionando si los niveles séricos bajos de IgA se encuentran relacionados directamente con la intolerancia a la lactosa. Al culminar con la presente investigación se estableció que de 95 pacientes estudiados el 33% (31) presentaron intolerancia a la lactosa y el 61% (19) de los mismos presentaron niveles séricos bajos de IgA, encontrándose directamente relacionados con la presencia de intolerancia a la lactosa.

4. REVISIÓN LITERARIA

4.1. Lactosa

4.1.1. Definición

La lactosa es el principal disacárido que se encuentra de forma original y predominante en la leche materna de todos los mamíferos. Siendo esta la principal fuente de hidratos de carbono, en la dieta de los recién nacidos aportando una buena parte de la energía diaria, por lo que la lactasa intestinal tiene específica importancia en la nutrición de los niños lactantes constituyéndose en la única fuente de galactosa que es además un componente importante de los tejidos nerviosos (McMurry, 2012; Cruchet, 2012; Tocoian, 2006; Izquierdo, 2011; Gomez, Danglot, & Vega, 2007)

A diferencia de la celobiosa y la maltosa, esta última contiene dos monosacáridos diferentes, una molécula de glucosa y otra de galactosa unidas por un enlace β -1,4. Por conservar un grupo aldehído libre, la lactosa es un azúcar reductor; siendo su poder reductor más débil que el de la glucosa, pero aumenta ampliamente cuando es hidrolizada (McMurry, 2012; Cruchet, 2012; Tocoian, 2006).

4.1.2. Metabolismo y Absorción de la lactosa

La lactosa es una sustancia osmóticamente muy activa que origina la secreción de líquidos y electrolitos a la luz intestinal hasta que se alcanza el equilibrio osmótico. Para la digestión y posterior absorción de la lactosa hace falta una enzima que se halla en el borde en cepillo del enterocito, denomina lactasa-florizina hidrolasa, más conocida como lactasa formada tras una compleja glicosilación de un precursor de cadena simple con un peso molecular elevado, y de un mecanismo de transporte activo que absorbe los monosacáridos resultantes de esta digestión (Tocoian, 2006; Izquierdo, 2011; Infante, 2008).

Una vez que la lactosa es hidrolizada en sus monosacáridos constituyentes; la glucosa y galactosa se absorben mediante transporte activo dependiente de sodio. La proteína

transportadora llamada SGLUT1 (transportador de glucosa dependiente de sodio) transporta una molécula de glucosa, otra de galactosa y dos de sodio. Este cootransportador ha sido clonado y secuenciado, formado por una secuencia de 664 aminoácidos, posee 12 dominios helicoidales transmembrana con la región aminoterminal en el citoplasma; mismo que no presenta homología con los transportadores de glucosa mediante difusión facilitada (Garcia & López, 2007; Estada, 2008) .

4.1.3. Intolerancia a la lactosa

La intolerancia a la lactosa se refiere a un síndrome clínico determinado por la presencia de síntomas como dolor abdominal, diarrea, náuseas, flatulencia, los síntomas pueden variar en cada individuo dependiendo de la cantidad de lactosa ingerida, el grado de intolerancia y el tipo de alimento consumido (Alliende, 2007; Infante, 2008; Quevedo, Rojas, & Soto, 2011).

La mala absorción digestiva de lactosa se presenta por un desequilibrio atribuible entre la cantidad de lactosa ingerida y la capacidad de la lactasa para hidrolizar el disacárido en la luz intestinal; esta se constituye como una entidad de diagnóstico frecuente en la edad pediátrica. El nacimiento prematuro y la enfermedad inflamatoria del tracto digestivo, también pueden originar deficiencia de lactasa e intolerancia a la lactosa (Alliende, 2007; Infante, 2008; Quevedo, Rojas, & Soto, 2011).

En la octava semana de gestación ya se puede detectar la actividad de lactasa en la mucosa intestinal dandose un aumento hasta la semana 34, alcanzando el pico máximo al nacimiento. La condición normal en los mamíferos es que se experimente un descenso en la producción de lactasa tras finalizar el período de lactancia (Zugasti, 2009; Terrés & Casas, 2002).

4.1.4. Déficit de Lactasa

Antes de la semana 24 de gestación la actividad de la lactasa, es baja, para aumentar de manera significativa en el tercer trimestre del embarazo y para alcanzar su máxima actividad en los niños nacidos a término y se mantiene en niveles altos hasta los tres años de edad aproximadamente, después de lo cual comienza a declinar su actividad de manera fisiológica (Ángel, Calvo, Muñoz, & Messing, 2006; Gomez, Danglot, & Vega, 2007).

El déficit de lactasa es uno de los defectos de asimilación de nutrientes más común en el mundo; establecida por la falta de hidrólisis de la lactosa, con la resultante mala absorción del disacárido, es así como, ante una mayor cantidad de lactosa en el contenido intestinal, aumenta su osmolaridad, favoreciendo la salida de agua; para reducir la hipertonicidad, y la motilidad hacia el colon; las bacterias metabolizan la lactosa, liberando ácidos orgánicos, hidrógeno y otros metabolitos, lo que se traduce en evacuaciones abundantes en agua, explosivas, ácidas caracterizadas por la presencia de azúcares (kelley, 1993; Ángel, Calvo, Muñoz, & Messing, 2006; Alliende, 2007).

Existen tres tipos de deficiencia de lactasa:

- **Primaria:** Llamada de comienzo tardío, tipo adulto, hipolactasia, o deficiencia hereditaria de lactasa, comúnmente se presenta a partir de los 2 años. Encontrándose determinada genéticamente por la presencia de una variante del gen que la codifica, localizado en el brazo largo del cromosoma 2. Aunque la deficiencia primaria de lactasa se puede presentar con un inicio relativamente agudo, esta presenta una pérdida de la actividad lactásica que aumenta de forma sutil y progresiva con la edad (Arroyo & Alcedo, 2004; Enriquez, Rodriguez, & Schneider, 2010; Izquierdo, 2011; Lunal, Pereira, Torres, & Rott, 2010; Alliende, 2007).
- **Secundaria:** Se presenta con más frecuencia durante la infancia, sin embargo puede aparecer a cualquier edad. Se produce por diversas causas en las que se ve alterada la mucosa intestinal y que disminuyen la actividad normal de la lactasa

dentro de estas se encuentran: gastroenteritis, enfermedad celíaca, resección intestinal, mal nutrición proteico-calórica, diarrea persistente, diarrea crónica etc., generalmente es reversible una vez resuelta la enfermedad que la ocasionó. (Enríquez, Rodríguez, & Schneider, 2010; Izquierdo, 2011; Luna, Pereira, Torres, & Rott, 2010; Alliende, 2007)

- **Congénita:** Entidad infrecuente del metabolismo de la actividad lactásica, con o sin una mínima actividad residual. Es un trastorno de carácter autosómico recesivo, en el cual recientemente se ha demostrado que las mutaciones del gen que codifica la lactasa serían la base de la enfermedad. La enzima se encuentra disminuida o ausente en el neonato y permanece anormal a lo largo de la vida; ocasionando deshidratación y pérdida de electrolitos, dando como resultado retraso del crecimiento y diarrea infantil. Se presenta desde el nacimiento, cuyo diagnóstico tiene lugar en la infancia (Arroyo & Alcedo, 2004; Enríquez, Rodríguez, & Schneider, 2010; Izquierdo, 2011; Luna, Pereira, Torres, & Rott, 2010; Alliende, 2007).
- **Hipolactasia del desarrollo o Deficiencia madurativa de lactasa:** La actividad lactasa del feto está en directa relación con la edad gestacional. Se encuentra confirmado que sólo después de las 34 semanas de gestación, se detecta una actividad lactásica suficiente como para recibir alimentación láctea. Esto corresponde a valores en torno al 30% de lo encontrado en un recién nacido de 40 semanas (Alliende, 2007; Arroyo & Alcedo, 2004; Infante, 2008).

4.1.5. Causas y Síntomas

La causa de la intolerancia a la lactosa se presenta debido a la deficiencia de la enzima que permite asimilar dicho alimento como es la lactasa; o bien por el rechazo del alimento en cuestión o uno de sus elementos frecuentemente una proteína. Algunas otras causas abarcan: infecciones en el intestino delgado a raíz de virus o bacterias, lo cual puede dañar las células que lo recubren (con mayor frecuencia en niños) y enfermedades intestinales como el esprúe celíaco (Ojeda, 2011; Fricker, Dartois, & Fraysseix, 2004).

La actividad enzimática de la lactasa se detecta en el intestino fetal a partir de la octava semana de gestación, aumentando gradualmente hasta la semana 34, disminuyendo en forma fisiológica a partir del destete; los niños que son pre término tendrán un riesgo mayor de padecer de intolerancia a la lactosa, presentándose una actividad de la lactasa inferior en este grupo de niños; los bebés con historial familiar de alergias son más susceptibles a padecer de intolerancia a la lactosa (Ojeda, 2011; Fricker, Dartois, & Fraysseixs, 2004; Labayen & Martínez, 2003).

La edad en la que más frecuentemente se presenta la intolerancia a la lactosa, es en el lactante menor, en estos niños es característico que media hora después de ingerir la leche, se desencadenan reacciones exageradas como vómitos graves, malestar generalizado en el niño con deshidratación, adelgazamiento, un cuadro de diarrea con heces ácidas, en algunos casos se disminuye la motilidad intestinal con presencia de estreñimiento con flatulencia, dolor y distensión abdominal; a partir de los 2 años la actividad de la lactasa desciende repentinamente hasta llegar 5-10% de los valores del lactante en la época escolar (Román, Guerrero, & García, 2012; Casanueva, Perez, & Kaufe, 2008; Gomez, Danglot, & Vega, 2007; Zugasti, 2009).

Otros síntomas que se pueden presentar son: dolores de cabeza y mareo, pérdida de la concentración, cansancio intenso, dolor muscular y articular, alergia, eczema, prurito, rinitis, sinusitis asma, arritmia cardíaca, úlceras bucales, y aumento de la frecuencia de las micciones (Fricker, Dartois, & Fraysseixs, 2004; Moreira & López, 2006).

La deficiencia primaria de lactasa se puede presentar como un inicio agudo, su desarrollo generalmente es ligero y progresivo durante muchos años y suele disminuir antes de la edad escolar. A diferencia de una intolerancia temporal a la lactosa que a veces se presenta por presencia de algún parásito intestinal, una deficiencia congénita de lactasa puede ser permanente y el niño probablemente no podrá tolerar productos lácteos (Eisenberg & Eisenberg, 2001; Gavilanes, Manjarrez, & Cravioto, 2002).

4.1.6. Epidemiología

Se estima que el 80% de la población mundial sufre intolerancia a la lactosa, con una distribución muy variable entre las diferentes razas y áreas geográficas, e incluso entre subpoblaciones y tribus. No existen diferencias en la prevalencia entre uno y otro sexo y puede afectar a cualquier edad (es extremadamente raro padecerla desde el nacimiento). En la raza blanca suele manifestarse entre los 5 y los 70 años, con una máxima incidencia en la tercera y cuarta décadas de la vida, mientras que en las personas de raza negra, la afección se presenta a menudo hasta los dos años de edad (Estada, 2008; Luna, Pereira, Torres, & Rott, 2010).

En general, entre los europeos blancos y sus descendientes (norteamericanos y australianos), la prevalencia de malabsorción es habitualmente inferior al 30% y en algunos casos supera el 60%; mientras que entre las poblaciones asiáticas y africanas las cifras superan el 70%, e incluso llegan al 100% de la población en algunos casos (Infante, 2008; Luna, Pereira, Torres, & Rott, 2010; Izquierdo, 2011).

La deficiencia congénita de lactosa es una rara entidad con muy pocos casos documentados en el mundo, la mayoría de ellos en Finlandia. En Chile, no existen aún estudios poblacionales, pero se estima una incidencia en torno al 35-45%. En España, la prevalencia de hipolactasia es similar al resto de Europa, con cifras que oscilan entre el 13-15% en Barcelona y hasta el 32,5% en Galicia (Arroyo & Alcedo, 2004; Fricker, Dartois, & Fraysseixs, 2004).

4.1.7. Respuesta inmunológica

Sabemos que el sistema inmune del recién nacido no está completamente bien desarrollado, siendo ésta la principal causa de la alta mortalidad y morbilidad debido a que el recién nacido es muy susceptible a infecciones (Gavilanes, Manjarrez, & Cravioto, 2002; Fricker, Dartois, & Fraysseixs, 2004).

La lactancia ha mostrado ser un factor protector contra infecciones intestinales y respiratorias. La protección específica por leche se ha atribuido a la presencia de inmunoglobulina A secretora (IgA) además contiene numerosos factores de defensa inespecíficos que también protegen a los recién nacidos contra bacterias y sustancias extrañas, tiene la capacidad de unirse a moléculas de alimentos e impedir que en la primera etapa de la vida del niño, cuando la permeabilidad de la mucosa intestinal del niño es elevada, estas pasen al torrente circulatorio. El recién nacido produce sólo pequeñas cantidades de IgA y alcanza los niveles del adulto, en saliva, sólo después de un año de edad (Gavilanes, Manjarrez, & Cravioto, 2002; Fricker, Dartois, & Fraysseixs, 2004; Gorczyński & Stanley, 2007).

El diagnóstico de la deficiencia selectiva de IgA se sospecha comúnmente por la existencia, ya sea recurrente o crónica, de infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes o diarrea crónica en la edad infantil. Los análisis del suero sanguíneo del paciente demuestran una marcada reducción o casi ausencia de IgA presentándose linfocitos B aparentemente normales, pero que no maduran en IgA produciendo células plasmáticas, con la resultante disminución en la respuesta inmunitaria del infante (Gorczyński & Stanley, 2007; Gavilanes, Manjarrez, & Cravioto, 2002).

4.2 Métodos de diagnóstico para Intolerancia a la lactosa

Existen diferentes métodos para el diagnóstico de intolerancia a la lactosa entre los que podemos destacar los siguientes:

- **Eliminación de la leche de la dieta:** Una alternativa sencilla a la prueba de detección de la malabsorción de lactosa en pacientes sospechosos de serlo es eliminar la leche de la dieta y comprobar si tiene algún efecto. Básicamente consiste en un régimen estricto sin el hidrato de carbono sospechoso por un período de dos semanas, seguido de reintroducción del mismo. La desaparición de los síntomas al suspender el agente y su reaparición al reintroducirlo, es sugerente de

intolerancia (Izquierdo, 2011; Luna, Pereira, Torres, & Rott, 2010; Quevedo, Rojas, & Soto, 2011).

- **Test de hidrógeno espirado:** Es considerado simple y seguro, el estándar de oro en el diagnóstico de la mala digestión de lactosa. Tiene su origen en la lactosa no digerida que al ser fermentada por la microflora colónica produce hidrogeno detectable en la excreción pulmonar. Se administra 50 gramos de lactosa vía oral y se considera positivo si los valores determinados a las 3-6 horas son más de 20 p.p.m (partes por millón) superiores con respecto al nivel basal, evidenciando la mala digestión de la lactosa; se debe realizar la corrección con dosificación del CO₂ en aire espirado, sobre todo si se realiza la prueba en lactantes. Presenta una sensibilidad 69-100% y especificidad 89-100% (Enriquez, Rodriguez, & Schneider, 2010; Luna, Pereira, & Torres, 2010; Izquierdo, 2011; Quevedo, Rojas, & Soto, 2011; Zugasti, 2009; Terrés & Casas, 2002).
- **Determinación del pH en heces:** Es un método inespecífico y de baja sensibilidad, se realiza con papel indicador, para esto se introduce la tira en las heces y se compara el cambio de color con la carta de colores, normalmente el pH es de 7. Si el pH es menor de 5,5 se asume presencia de ácidos grasos volátiles, resultado de la digestión bacteriana de carbohidratos no absorbidos (Luna, Pereira, & Torres, 2010; Zugasti, 2009).
- **Prueba sanguínea tolerancia o curva de lactosa:** Valora la actividad de la lactasa midiendo la elevación de la glucemia cada 20 o 30 minutos durante 2 horas, tras la ingestión de 50 o 100 g de lactosa. Se considera normal una elevación de 20 mg/dl sobre la cifra basal. Tiene una alta tasa de falsos positivos (hasta 30%), principalmente consecuencia de la rápida respuesta insulínica de algunos individuos. Presenta una especificidad entre 77 y 96% y una sensibilidad entre 76 y 94% (Luna, Pereira, & Torres, 2010; Terrés & Casas, 2002).
- **Biopsia del Intestino delgado:** Es un procedimiento invasivo, de baja confiabilidad, porque la actividad de las disacaridasas en una pequeña muestra, no

necesariamente refleja la actividad yeyunal en su totalidad. Se considera diagnóstica cuando dicha actividad es inferior a 10 U/g con una mucosa intestinal normal, puede confirmar la intolerancia a la lactosa tras un test de hidrógeno espirado positivo (Luna, Pereira, & Torres, 2010; Zugasti, 2009).

4.2.1 Azúcares reductores por el Método de Fehling

Reactivo de Fehling: Conocido como licor de Fehling, es una disolución descubierta por el químico alemán Hermann Von Fehling y que se utiliza como reactivo para la determinación de azúcares reductores. Sirve para demostrar la presencia de azúcares reductores (aldosas: glucosa, ribosa, eritrosa, lactosa etc.) (De Jaime & De Jaime, 2011).

El licor de Fehling consiste en dos soluciones acuosas:

- **Solución A de Fehling:** Sulfato de cobre cristalizado 0.28 N (35 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua destilada).
- **Solución B de Fehling:** Sal de Seignette o Tartrato mixto de potasio y 1.5 N (158 g en 500 ml) en hidróxido potásico 4 N (112 g en 500 ml de agua destilada) (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

Fundamento

El ensayo con el reactivo de Fehling se fundamenta en una reacción redox en la que el grupo aldehído (reductor) de los azúcares es oxidado a grupo ácido por el Cu^{2+} que se reduce a Cu^+ . Tanto los monosacáridos como los disacáridos reductores reaccionan con el Cu^{2+} dando un precipitado rojo de óxido cuproso. La reacción tiene lugar en medio básico por lo que es necesario introducir en la reacción tartrato sódico-potásico para evitar la precipitación del hidróxido cúprico (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

La prueba de Fehling no es específica; otras sustancias que dan reacción positiva son los fenoles, aminofenoles, benzoína, ácido úrico, catecol, ácido fórmico, hidrazobenceno,

fenilhidrazina, pirogalol y resorcinol (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

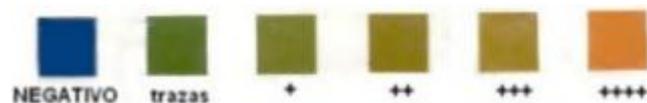
Método

1. Se realiza la toma de heces, se suspende en agua destilada. La muestra deberá de ser fresca y deberá analizarse dentro de una hora después de su recolección.
2. Numerar los tubos de ensayo.
3. Se mezcla bien y se coloca las dos fracciones del reactivo en un tubo de ensayo, (Fracción A y Fracción B) junto con 15 gotitas de la muestra suspendida.
4. Calentar con el mechero durante 1 min y observar si se produce algún cambio. Si existen cuerpos reductores, la suspensión cambiara de color debido a la reacción. (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

Valores de referencia

- Si el color de la prueba de azul transparente no precipita es negativo.
- Si el color de la prueba cambia a un color: verde no precipitado, verde precipitado, amarillo, verde oliva, castaño, marrón, naranja o rojo ladrillo, el resultado será positivo (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

Color- Aspecto	Resultado
Azul transparente no precipitado	Negativo
Azul o enturbiamiento Verde no precipitado	Huellas
Verde precipitado	1 +
Amarillo	(+)
Desde Amarillo hasta Verde Oliva (oscuro)	2+ (++)
Castaño a Marrón	3+ (+++)
Naranja o Rojo Ladrillo	4 + (++++)



4.3 Métodos de diagnóstico para cuantificar los niveles séricos de IgA

Existen diferentes métodos o técnicas para la cuantificación de niveles séricos de IgA entre los que podemos destacar:

- **Inmunodifusión radial (IDR) o test de difusión en gel:** Es una técnica de análisis inmunológico de tipo cuantitativo, se basa en la formación de bandas de precipitación Ag-Ac en medios semisólidos (generalmente de agarosa). La formación de inmunocomplejos se ve afectada por variables como: pH, temperatura, fuerza iónica del medio, características propias del Ac como afinidad, avidéz y, la más importante, la concentración relativa de Ag y Ac. La zona óptima de concentración para la formación del precipitado Ag-Ac se llama zona de equivalencia (Pesantez, 2011).

La proteína a analizar, al difundir en gel de agarosa en el que se ha disuelto el anticuerpo específico, forma un inmunocomplejo visible como un anillo alrededor del pocillo de siembra. El antígeno difunde radialmente en la mezcla gel-anticuerpo y se forma un disco o anillo de precipitado visible en un punto que depende de la relación estequiométrica antígeno-anticuerpo. Al completarse la reacción a las 72 horas para IgA, se realiza la medida del diámetro del anillo de precipitación en mm² y se compara con una curva de calibración. La técnica de inmunodifusión radial es lenta y poco sensible ya que necesita mucha cantidad de anticuerpos (o antígeno) para que se formen complejos (Beneanula, 2010; Pesantez, 2011).

- **Nefelometría:** la inmunoglobulina IgA también puede cuantificarse por nefelometría. Para ello, el suero incógnita deberá ser incubado con exceso del anticuerpo específico (anti-IgA) a fin de que se produzca la formación de complejos inmunes. Esta técnica, es un método óptico que cuantifica la luz dispersada por los complejos inmunes formados, la cual es proporcional a la concentración del antígeno específico, en nuestro caso, IgA del suero incógnita (Pesantez, 2011; Ramos, Rodríguez, & Cisneros, 2004).

- **ELISA Cuantitativo Indirecto:** El Elisa Cuantitativo se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar sobre la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. El Elisa indirecto emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno, y uno secundario marcado contra el primario. La detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal debida a la unión de dos o más anticuerpos secundarios por cada primario (Pesantez, 2011; Ramos, Rodríguez, & Cisneros, 2004).

4.3.1 Método Inmunoturbidimétrico para cuantificación de niveles séricos de IgA

Fundamento del Método Inmunoturbidimétrico

La prueba Inmunoturbidimétrica, para la determinación cuantitativa de inmunoglobulina A, en suero humano, se basa en la reacción entre la inmunoglobulina y su anticuerpo específico.

El ensayo Inmunoturbidimétrico mide el aumento de la turbiedad de la muestra causada por la formación de inmunocomplejos cuando se añade anticuerpo de IgA a la muestra. La dispersión de luz generada por los complejos antígeno anticuerpo es proporcional a la concentración de inmunoglobulina A y puede ser cuantificada por turbidimetría

Las indicaciones para la cuantificación de IgA sérica incluyen infecciones recurrentes, especialmente del tracto respiratorio inferior o gastrointestinal. La IgA no atraviesa la placenta y, como resultado, los niveles séricos de IgA en lactantes son muy bajos. Los

niveles séricos de IgA no alcanzan concentraciones adultas hasta los 12 años de edad (Beneanula, 2010; Ramos, Rodríguez, & Cisneros, 2004).

Principio del método Inmunoturbidimétrico

Los anticuerpos anti IgA reaccionan con el antígeno de la muestra para formar un complejo antígeno-anticuerpo. La aglutinación resultante se mide turbidimétricamente. Al añadir PEG (polietilenglicol) la reacción avanza rápidamente hacia el punto final, incrementándose así la sensibilidad de la prueba y reduciéndose simultáneamente el riesgo de obtener resultados falsos negativos por muestras que contienen un exceso de antígeno (Roche, 2015).

Valores de referencia normales.

- 0 a 1 año ⇨ de 0.00 a 83 mg/dl.
- 1 año a 3 años ⇨ de 20.0 a 100 mg/dl.
- 4 años a 6 años ⇨ de 27.0 a 195 mg/dl.
- 7 años a 9 años ⇨ de 34.0 a 305 mg/dl.
- 10 años a 11 años ⇨ de 53.0 a 204 mg/dl.
- 12 años a 13 años ⇨ de 58.0 a 358 mg/dl (Roche, 2015).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Tipo de estudio

En la siguiente investigación se realizó un estudio de tipo descriptivo, y de corte transversal.

5.2 Área de estudio

El área de estudio de la presente investigación son los niños menores de dos años que acudieron al Centro de Salud No 1 de Loja, que presentaron sintomatología de intolerancia a la lactosa.

5.3 Universo y Muestra

El universo lo constituyeron 288 pacientes pediátricos que acudieron a los consultorios de Pediatría del Centro de Salud N° 1; durante el periodo de noviembre 2016 a enero 2017; la muestra estuvo constituida por 95 pacientes, que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, de los cuales sus padres brindaron el consentimiento informado.

5.4 Criterios de inclusión y exclusión.

5.4.1 Criterios de Inclusión:

- 1) Contar con el consentimiento informado de los padres de familia, para realizar la investigación.
- 2) Pacientes pediátricos de ambos sexos menores de dos años que presenten sintomatología común de intolerancia a la lactosa, previa evaluación del médico pediatría del Centro de Salud No1.
- 3) Pacientes con pedido de examen de azúcares reductores y no reductores, derivados al laboratorio clínico por parte del médico pediatra del Centro de Salud No1.

5.4.2 Criterios de exclusión

- 1) Encontrarse en un rango mayor a 2 años y no presentar sintomatología.

5.5 Métodos, técnicas y procedimientos

5.5.1 Fase pre-analítica:

- Autorización para la recolección y procesamiento de muestras en las instalaciones del Centro de Salud No 1 de la ciudad de Loja por parte del Director de la institución Dr. Cesar Cueva (Anexo 1).
- Aplicación del Consentimiento informado (Anexo 2).
- Protocolos de recolección y transporte de las muestras (Anexo 3).
- Calibración del Equipo Cobas c 311 (Anexo 4)

5.5.2 Fase analítica:

- Determinación de azúcares reductores mediante el método de Fehling (Anexo 5).
- Determinación de niveles séricos de IgA mediante el Método Inmunoturbidimétrico realizado en el laboratorio clínico de la Clínica Nataly (Anexo 6).
- Registro de los resultados obtenidos (Anexo 7).
- Control de calidad (Anexo 8).

5.5.3 Fase post-analítica:

- Validación y entrega de resultados (Anexo 9).
- Formato de resultados (Anexo 10).

5.6 Tabulación y análisis de resultados

- La tabulación de los resultados se expresó en tablas y gráficos que describen la frecuencia y porcentaje de los datos, utilizando el programa Microsoft Excel 2010.

6. RESULTADOS

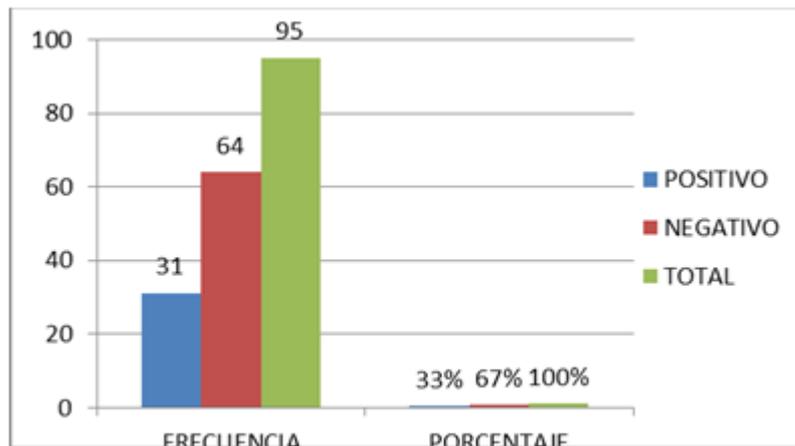
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Tabla N° 1.- Intolerancia a la lactosa en heces diarreicas de niños menores de dos años que acudieron al Centro de Salud No 1, en el periodo noviembre 2016 a enero 2107, a través de la prueba de azúcares reductores.

RESULTADO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
POSITIVO	31	33%
NEGATIVO	64	67%
TOTAL	95	100%

Fuente: Hoja de recolección de datos de los pacientes.
Elaborado por: Daniela Alvarado Jaramillo.

Gráfico N° 1.- Intolerancia a la lactosa en heces diarreicas de niños menores de dos años que acudieron al Centro de Salud No 1, en el periodo noviembre 2016 a enero 2107, a través de la prueba de azúcares reductores.



Fuente: Hoja de recolección de datos de los pacientes.
Elaborado por: Daniela Alvarado Jaramillo.

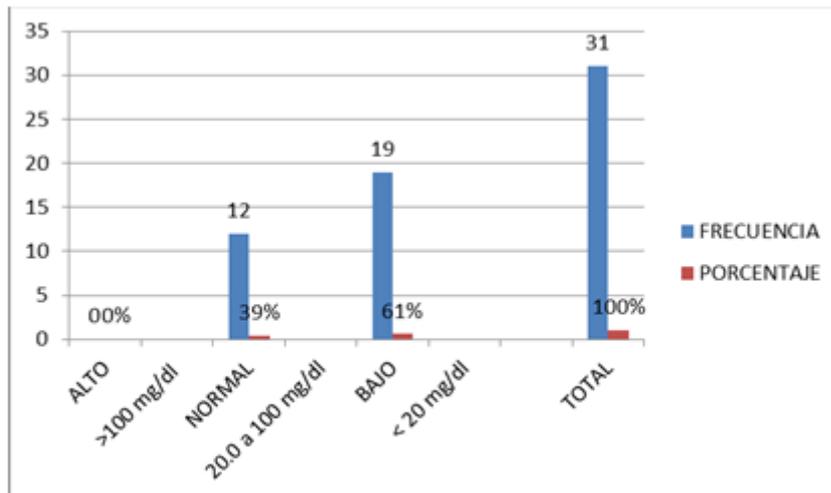
Interpretación de resultados: del total de niños que participaron en la presente investigación el 33% (31), presentaron resultados positivos en la prueba de azúcares reductores.

Tabla N° 2.- Niveles séricos de IgA en los pacientes menores de dos años que resultaron positivos a la prueba de azúcares reductores, que acudieron al Centro de Salud No 1, en el periodo noviembre 2016 a enero 2017, a través del Método Inmunoturbidimétrico.

RESULTADO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
ALTO	0	0%
>100 mg/dl		
NORMAL	12	39%
20.0 a 100 mg/dl		
BAJO	19	61%
< 20 mg/dl		
TOTAL	31	100%

Fuente: Hoja de recolección de datos de los pacientes.
Elaborado por: Daniela Alvarado Jaramillo

Gráfico N° 2.- Niveles Séricos de IgA en los pacientes menores de dos años que resultaron positivos a la prueba de azúcares reductores, que acudieron al Centro de Salud No 1, en el periodo noviembre 2016 a enero 2017, a través del Método Inmunoturbidimétrico.



Fuente: Hoja de recolección de datos de los pacientes.
Elaborado por: Daniela Alvarado Jaramillo.

Interpretación de resultados: Del total de niños participantes del estudio que presentaron intolerancia a la lactosa, el 61% (19), mantienen niveles bajos de IgA con respecto al valor de referencia normal que es 20 mg/dl.

Tabla N° 3.- Correlación intolerancia a la lactosa en los niveles séricos de IgA en niños menores de dos años que acudieron al Centro de Salud No 1 de Loja, en el periodo de noviembre 2016 a enero 2017.

PACIENTES POSITIVOS PARA AZÚCARES REDUCTORES	IgA Alto		IgA Normal		IgA Bajo	
	FRECUENCIA	PORCENTAJE	FRECUENCIA	PORCENTAJE	FRECUENCIA	PORCENTAJE
	31	0	0%	12	39%	19

Fuente: Hoja de recolección de datos de los pacientes
Elaborado por: Daniela Alvarado Jaramillo

Interpretación de resultados: Niveles séricos bajos de IgA se presentaron en 19 de los pacientes intolerantes a la lactosa que resultaron positivos en la prueba de azúcares reductores por el método de Fehling, evidenciándose la existencia de una relación directa con esta patología.

7. DISCUSIÓN

La intolerancia a la lactosa es una enfermedad que se origina por la insuficiencia de una enzima denominada lactasa, que es producida en el intestino delgado de los seres humanos; siendo incapaz de desdoblar la molécula de lactosa e impide la buena absorción y digestión de productos lácteos y sus derivados, ha sido reconocida desde hace varias décadas como responsable directa o indirecta de la iniciación o prolongación de ciertas diarreas infantiles, afectando principalmente a niños que se encuentran entre los 6 y 11 meses de edad. (Izquierdo, 2011).

En el presente estudio se analizaron 95 muestras de heces de niños menores de dos años que asistieron al Centro de Salud No1 de Loja en el periodo noviembre 2016 a enero 2017, encontrándose como resultado 31 casos positivos para intolerancia a la lactosa correspondiente al 33%. En un estudio realizado por Paredes, 2011 sobre la Intolerancia a la Lactosa en el Centro de Salud N°1 de nuestra localidad utilizando el método de azúcares reductores de Fehling, se examinaron las muestras de heces de 63 niños menores de 2 años, dándose como resultado un 55% (22) intolerantes a la lactosa. Cabe recalcar que los dos estudios se realizaron bajo el mismo método, con la diferencia de que la población de estudio es mayor en la presente investigación. Al comparar los resultados del estudio citado con los obtenidos en la presente investigación se determina que no existe relación entre los valores ya que existe un porcentaje mayor de positividad en el estudio antes mencionado (Paredes, 2011).

Otro estudio realizado en la ciudad de Ambato por Moreano, 2015 sobre: Determinación de azúcares reductores y su relación con carbohidratos no absorbidos en niños menores de un año, empleando el método de azúcares reductores de Fehling, se examinaron 100 muestras, los resultados obtenidos expresaron que el 57 % (57) son intolerantes a la lactosa .Al respecto de este estudio se puede señalar que la población analizada se encuentra dentro del rango etario utilizado para la medición en esta investigación y el método usado es el mismo. Sin embargo al ser contrastados los

resultados obtenidos en la presente investigación se determina que existe un mayor porcentaje de pacientes positivos para intolerancia a la lactosa en el estudio antes citado (Moreano, 2015).

En un estudio realizado en Chile por Parra, Furió, Arancibia, 2015 se analizaron 194 pacientes de entre 1 a 17 años de edad con sospecha de intolerancia a la lactosa que acudieron al Laboratorio de Gastroenterología de la Pontificia Universidad Católica de Chile, reportándose 53 (27%) con resultados positivos para intolerancia a la lactosa. Al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con los del estudio antes mencionado se encontró un mayor porcentaje de positividad, debido a que se utilizó un método diferente para la determinación de intolerancia a la lactosa como es el test de hidrógeno espirado el cual presenta un porcentaje mayor de especificidad y por otro lado se realizó el estudio en una población con un rango mayor a la edad estudiada en la presente investigación (Parra, Furió, & Arancibia, 2015).

En un estudio realizado en México por Sánchez y Díaz, 2012 sobre el comportamiento de la diarrea y la presencia de azúcares reductores en niños menores de 5 años, utilizando el método de Benedict, en una población de 200 niños, obteniendo como resultado un 4% (7) positivos para azúcares reductores. Al respecto de este estudio se puede señalar que los resultados obtenidos difieren ya que un porcentaje menor de niños presentan intolerancia a la lactosa, en comparación al porcentaje de niños intolerantes a la lactosa obtenido en la presente investigación, esto puede deberse a que en el estudio realizado por Sánchez y Díaz se empleó un método diferente para determinación de azúcares reductores, además de que la población estudiada presentaba un rango etario mayor (Sánchez & Díaz, 2012).

En la presente investigación de los 31 casos positivos para azúcares reductores por presencia de intolerancia a la lactosa, 19 casos equivalentes al 61% presentaron niveles bajos de IgA; en la actualidad no se presentan estudios de determinación de la IgA en relación a la presencia de intolerancia a la lactosa, con frecuencia debido a los altos costos;

sin embargo se pudo recopilar un estudio realizado por Hernandez, Garcia y Vega ,2014; a 44 niños menores de 6 años con diagnóstico de diarrea crónica inespecífica, atendidos en el Instituto de Gastroenterología de la Habana Cuba, se realizó la medición de IgA en el suero utilizando el método turbidimétrico, encontrándose como principal trastorno inmunológico niveles séricos bajos de IgA con un 53.1% ; al comparar los resultados del estudio con los obtenidos en la presente investigación se determina que existe una relación significativa entre los porcentajes de niveles séricos bajos de IgA, debido a que se encuentran en una población similar con la relativa inmadurez del sistema inmune que acompaña a los primeros años de vida donde la secreción de IgA como factor protector frente a la enfermedad diarreica, se encontraba disminuido (Hernández, García, Vega & Lazo ,2014).

8. CONCLUSIONES

De la realización del presente trabajo investigativo se pudieron obtener las siguientes conclusiones:

1. El 33 % de la población de estudio presentaron intolerancia a la lactosa.
2. Con la determinación de la IgA por el método Inmunoturbidimético se obtuvo que el 61% del total de niños intolerantes a la lactosa, presentaron niveles de IgA bajos con respecto al valor de referencia normal que es 20 mg/dl.
3. De acuerdo a los resultados obtenidos de los 31 pacientes intolerantes a la lactosa, 19 presentaron niveles séricos bajos de IgA evidenciándose que existe una relación directa con esta patología.
4. La entrega y difusión de resultados a los padres de familia de los niños que formaron parte del estudio, tuvo lugar el día 9 de octubre del 2017, gracias a la cooperación de la médica pediatra del Centro de Salud No1.

9. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a los nuevos investigadores que en futuros estudios, se utilicen nuevos métodos para determinación de azúcares reductores, para establecer una comparación entre estos, ya que el método utilizado presenta una amplia gama de colores de contraste para su interpretación lo que permite una percepción distinta por cada investigador.
2. A los Centros de Salud pertenecientes al Ministerio de Salud Pública fortalecer las campañas realizadas anualmente sobre la lactancia materna, estimulando y explicando a la madre los beneficios a favor del niño de la transmisión por medio de la leche materna de la Inmunoglobulina A, ya que es considerada como la primera línea de defensa contra patógenos, infecciones y alergias alimentarias, y así evitar problemas posteriores que puedan afectar su crecimiento y desarrollo.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Alliende, F. (2007). Intolerancia a la lactosa y otros disacáridos. *XXVIII Curso de avances en Gastroenterología, XVIII* (2), 152-156.
- Anderson, A. (15 de 06 de 2012). *Manual de Laboratorio*. Recuperado el 19 de 07 de 2016, de Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco: <http://www.hhha.cl/Manual%20de%20Laboratorio%20hhha%202012.pdf>
- Ángel, L., Calvo, E., Muñoz, Y., & Messing, B. (diciembre 2006). Deficiencia de lactasa, intolerancia a la lactosa y pico de masa ósea en jóvenes Colombianos. *Revista Colombiana de Reumatología, XIII*(4), 271-286. Recuperado el 27 de 12 de 2016, de <http://www.scielo.org.co/pdf/rcrc/v13n4/v13n4a04.pdf>
- Arroyo, M., & Alcedo, J. (Marzo de 2004). Intolerancia a la lactosa: diagnóstico y tratamiento. *Jano. Servicio del Aparato Digestivo. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza. España., XVI*(1512), 956-957.
- Beneanula, D. (2010). *Tesis de pregrado: Determinación de Inmunoglobulina A en suero sanguíneo por los métodos de inmunodifusión radial y Elisa cuantitativo indirecto en niños de edad escolar*. Recuperado el 30 de 12 de 2016, de Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Bioquímica y Farmacia: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2462/1/tq1003.pdf>.
- Calderón, R. (Junio de 2007). *Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biotecnología*. Recuperado el 30 de 12 de 2016, de Inmunoquímica: <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>
- Casanueva, E., Perez, A., & Kaufe, M. (2008). *Nutriología Médica*. México: Editorial Médica Panamericana S.A.
- Cruchet, S. (abril 2012). Intolerancia a la lactosa: la importancia de un buen diagnóstico y tratamiento. *Gastroenterología y Nutrición Pediátrica. Individualmentos*, 101-102.
- De Jaime, J., & De Jaime, P. (25 de Octubre de 2011). *Reactivo de Fehling*. Recuperado el 29 de 12 de 2016, de <https://blog.uchceu.es/eponimos-cientificos/reactivo-de-fehling/>

- Díaz, A., Jorrín, J., & Bárcen, J. (2003). *Reacciones coloreadas para determinación cualitativa de azúcares reductores*. Recuperado el 26 de 01 de 2017, de <http://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/20%20reacciones%20coloreadas%20de%20az%c3%9acares.pdf>
- Eisenberg, A., & Eisenberg, H. (2001). *El primer año del bebé*. Barcelona, España: Grupo Editorial Norma.
- Enríquez, H., Rodríguez, J., & Schneider, R. (2010). *Síndrome del Intestino Irritable y otros Transtornos Relacionados*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A.
- Estada, U. (17 de Diciembre de 2008). *Tesis Doctoral: Metabolismo de los hidratos de carbono en los enterocitos de sujetos con enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerosa*. Recuperado el 26 de 12 de 2016, de Universidad de Valencia: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/9550/estada.pdf;jsessionid=F14A48220E488D9A0860EC1D074B3ECF?sequence=1>
- Fricker, J., Dartois, A., & Frayssseixs, M. (2004). *Guía de la alimentación del niño: de la concepción a la adolescencia* (Vol. I). Madrid, España: Ediciones Tursen S.A.
- García, P., & López, G. (2007). Evaluación de la absorción y metabolismo intestinal. *Nutrición Hospitalaria Unidad de Nutrición Clínica. UGEN. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla , XXII(2)*, 5-13. Recuperado el 26 de 12 de 2016, de <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v22s2/fisiologia1.pdf>
- Gavilanes, S., Manjarrez, Á., & Cravioto, A. (Mayo de 2002). Inmunoprotección por la leche humana. *Revista Mexicana de Pediatría.*, *LXIX(3)*, 111-119. Recuperado el 30 de 12 de 2016, de Inmunoprotección por leche humana.: www.medigraphic.com/pdfs/sp-2002/sp023h.pdf
- Gómez, M., Danglot, C., & Vega, L. (2007). Intolerancia transitoria a lactosa: Criterios y procedimientos de diagnóstico. *Revista Mexicana de Pediatría*, *LXXIV(1)*, 24-31.
- Gorczyński, R., & Stanley, J. (2007). *Inmunología basada en la resolución de problemas*. Madrid, España: Elsevier España S.A.

- Infante, D. (2008). Intolerancia a la lactosa: en quien y porque. *Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Soporte Nutricional. Barcelona. España., LXIX(2)*, 103-105.
- Izquierdo, E. (abril de 2011). Situación actual de la intolerancia a la lactosa en la infancia. *Revista de Pediatría de Atención Primaria, XIII(50)*, 271-278.
- Lukashok, H., Loor, L., Robles-Jara, C., & Robles-Medranda, C. (2010). *Instituto Ecuatoriano de enfermedades digestivas*. Obtenido de: *Prevalencia de intolerancia a la lactosa en pacientes que acuden a un Centro de referencia en Gastroenterología: resultados de un estudio retrospectivo en la población ecuatoriana*. XXXII Congreso Panamericano de Gastroenterología. Guayaquil, Ecuador: <http://www.ieced.com.ec/investigacion-y-publicaciones>.
- Luna, N., Pereira, M., Torres, E., & Rott, C. (febrero de 2010). Intolerancia a la lactosa en pediatría. *Revista de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina(198)*, 16-19.
- McMurry, J. (2012). *Química Orgánica* (8a.edición ed.). Colombia, Santa Fe: Cengage Learning Editores S.A.
- Moreira, V., & López, A. (Febrero de 2006). Intolerancia a la lactosa: ¿Qué es la lactosa? ¿Cuál es la causa de la intolerancia a la lactosa? *Revista Española de Enfermedades Digestivas, XCVIII(2)*, 143. Recuperado el 27 de 12 de 2016, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082006000200009
- Moreano, M. (2015). Determinación de azúcares reductores y su relación con carbohidratos no absorbidos en niños menores de un año. Retrieved from [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9981/1/Canseco_Villota, Carmen Jacqueline.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9981/1/Canseco_Villota,_Carmen_Jacqueline.pdf)
- Paredes, J. I. (02 de 2011). *Tesis/Universidad Nacional de Loja*. Recuperado el 24 de 05 de 2016, de Intolerancia a la lactosa en niños menores de 2 años de edad: dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/6573

- Parra, A., Furió, S., & Arancibia, G. (2015). Análisis de test de aire espirado en niños con sospecha de intolerancia a la lactosa. *Revista Chilena de Pediatría*, LXXXIX(2), 80-85.
- Pesántez, F. (2011). *Tesis pregrado: Diagnóstico de Inmunoglobulinas por el Método de Inmunodifusión Radial*. Recuperado el 26 de 01 de 2017, de Universidad Católica de Cuenca.Unidad Académica de Ingeniería Química.: <http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/5220/4/Diagn%C3%B3stico%20de%20inmunoglobulinas%20por%20el%20m%C3%A9todo%20de%20inmunodifusi%C3%B3n%20radial.pdf>
- Quevedo, L., Rojas, M., & Soto, M. (2011). Intolerancia a la lactosa. *Revista Pediatría Electronica. Universidad de Chile. Facultad de Medicina. Departamento de Pediatría y Cirugía Infantil.*, VIII(3), 12-15.
- Ramos, V., Rodríguez, A., & Cisneros, R. (2004). Ensayo inmunoturbidimétrico para la cuantificación de IgA, IgG e IgM en suero humano. *Revista Mexicana de Bioquímica Clínica*, XXIX(2), 45-54.
- Roche, D. (2015).Inserto de la IGA-2,pg 1-5.
- Román, D., Guerrero, D., & García, P. (2012). Dietoterapia, nutrición clínica y metabolismo. Madrid, España: Ediciones Diaz de Santos S.A. .
- Sánchez, V., Díaz, J. (2012). Comportamiento clínico de la enfermedad diarreaica aguda tratada con y sin antibióticos previo a su ingreso en niños menores de cinco años de edad. Recuperado el 19 de 04 de 2017, de <http://www.redalyc.org/pdf/487/48710204.pdf>
- Terrés, A., & Casas, L. (11 de 04 de 2002). Enfermedad diarreaica e intolerancia a la lactosa en Mexico. *Revista Médica IMSS*, XL(4), 329-341. Recuperado el 11 de 05 de 2016, de Mediagraphic: [www.hablemosclaro.org/Repositorio/biblioteca/b184 Enfermedad diarreaica e intolerancia a la lactosa.pdf](http://www.hablemosclaro.org/Repositorio/biblioteca/b184%20Enfermedad%20diarreaica%20e%20intolerancia%20a%20la%20lactosa.pdf)
- Tocoian, V. (8 de septiembre de 2006). *Tesis Doctoral: Patrón genético de la hipolactasia tipo adulto en niños y adolescentes de Galicia. Universidad Santiago de Compostela. Facultad de Medicina*. Obtenido de

https://minerva.usc.es/xmlui/bitstream/handle/10347/2264/9788497508186_content.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Villalobos, J. (20 de 04 de 2007). *Instructivo para la toma y envío de de heces para diagnóstico de enfermedad diarreica aguda*. Obtenido de: Dirección médica Subdirección de prevención y protección de salud. Departamento de vigilancia y control epidemiológico.mexico:http://www.issste-cmn20n.gob.mx/Archivos%20PDF/Instructivo%20muestras_edas_Rivelissste_13%20abril.pdf

Zugasti, A. (diciembre de 2009). Mitos y realidades de la intolerancia a los alimentos. *Nutrición Clínica en Medicina.Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Hospital Virgen del Camino.Pamplona, III (3), 152-154*

11. ANEXOS

ANEXO N° 1

AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

Loja, 28 de septiembre del 2016.

Dr. Cesar Cueva Bravo.

DIRECTOR DEL CENTRO DE SALUD NO 1 DE LOJA

De mis consideraciones:



Yo, **DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO**, con C.I.1104746449 estudiante del VII ciclo de la Carrera de Laboratorio Clínico del ASH de la UNL, solicito de la manera más comedida se digne autorizar la realización de mi proyecto titulado: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA**. Para el desarrollo del mismo requiero realizar la toma de muestras sanguíneas y recepción de muestras de heces de los pacientes pediátricos atendidos en esta institución.

Esperando ser atendida favorablemente, le antelo mi sincero agradecimiento.

Atentamente,



DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO.

C.I. 1104746449

*Recibido 28-09-2016
15:55' J. Jaramillo*

ANEXO N° 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Señor padre de familia del:

Niño/a.....

Con la finalidad de realizar la investigación: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA EN EL PERIODO SEPTIEMBRE 2016 – FEBRERO 2017**, me permito solicitar su autorización, a fin de recolectar una muestra de heces y una muestra sanguínea de su hijo, la cual permitirá realizar los exámenes pertinentes para contribuir al diagnóstico temprano de intolerancia a la lactosa y prevenir afecciones futuras.

Por lo que reitero mi pedido para contar con su valioso consentimiento para proceder a la recepción antes citada.

Firma del padre de familia del participante.....

C.I.....

Fecha.....

ANEXO N°3

PROTOCOLO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE HECES

Obtención de la muestra

Para la obtención de la muestra se el paciente deberá seguir las siguientes indicaciones:

- ❖ Obtener la muestra por eliminación espontánea.
- ❖ Depositar la muestra en un frasco limpio.
- ❖ La cantidad mínima requerida es ½ cucharadita de té.
- ❖ Recolección de muestra de deposición de pañal.
- ❖ Sacar con la espátula de madera, la deposición más superficial y abundante que contenga el pañal.
- ❖ Se debe obtener la muestra, ojalá recién emitida, para evitar que ésta sea absorbida por el pañal.
- ❖ Sacar mínimo 1/3 de la espátula y depositarla en frasco de boca ancha.

Transporte y Conservación:

- ❖ La muestra debe ser trasladada al Laboratorio, antes de dos horas de su obtención o ser conservada a 4°C.

Las muestras que serán rechazadas serán por las siguientes razones:

- ❖ Muestras sin rotular o sin identificación.
- ❖ Muestras contaminadas con orina.
- ❖ Muestras que se han demorado más del rango de tiempo establecido
- ❖ Muestras que evidencien que hayan sido derramadas.
- ❖ Cantidad inadecuada.

(Anderson, 2012) (Villalobos, 2007)

PROTOCOLO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA SANGUINEA

LA PREPARACIÓN DEL PACIENTE:

- ❖ Hable con el padre del paciente. Explique el procedimiento a seguir.
- ❖ Explicar al padre de familia en general los exámenes de sangre se toman en ayunas, pues la ingesta de alimentos puede hacer variar los resultados de algunos exámenes
- ❖ La primera impresión y las observaciones inmediatas pueden ser útiles en la recolección de la muestra.
- ❖ Establecer el sitio de la punción, las precauciones necesarias y la forma correcta para el trato del paciente pediátrico.
- ❖ La comunicación afectiva es determinante en la relación con el paciente pediátrico.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- ❖ Reúna el material y llévelo a la unidad del paciente
- ❖ Explique el procedimiento al paciente si éste está consciente con lenguaje claro.
- ❖ Lávese las manos y colóquese guantes de procedimientos.
- ❖ Acomode al paciente, coloque la extremidad elegida sobre superficie plana acojinando la articulación, permitiendo una punción certera.
- ❖ Coloque el torniquete, permitiendo que la vena se palpe o se vea con más facilidad.
- ❖ Realizar la desinfección de la zona a puncionar con alcohol 70%.
- ❖ Fije la vena con ayuda de una de sus manos. Solicite al padre del paciente su colaboración para sujetar al niño a fin de evitar error en la punción.
- ❖ Inserte la aguja con el bisel hacia arriba, puncione la vena y observe el reflujo de sangre.
- ❖ Mantenga fija la aguja durante la extracción.
- ❖ Realice presión sobre el sitio de punción con torunda de alcohol y selle con tela o hansaplast.
- ❖ Obtener muestra con proporción adecuada y evitar que muestra se coagule.

- ❖ Rotule los tubos con nombre y código del paciente. Evitar errores de identificación de muestras. Retírese guantes, lávese las manos, retire el material y registre en hoja de datos del paciente.

TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

- ❖ Una vez que se haya colectado la muestra sanguínea, ésta debe ser llevada pronto al laboratorio para su procesamiento. Algunas pruebas exigen que el suero sea separado cuanto antes del coágulo sanguíneo, para evitar alteraciones en la composición o niveles de algunos metabolitos. De más está decir que la muestra debe ser acompañada por su correspondiente formulario de solicitud de examen.

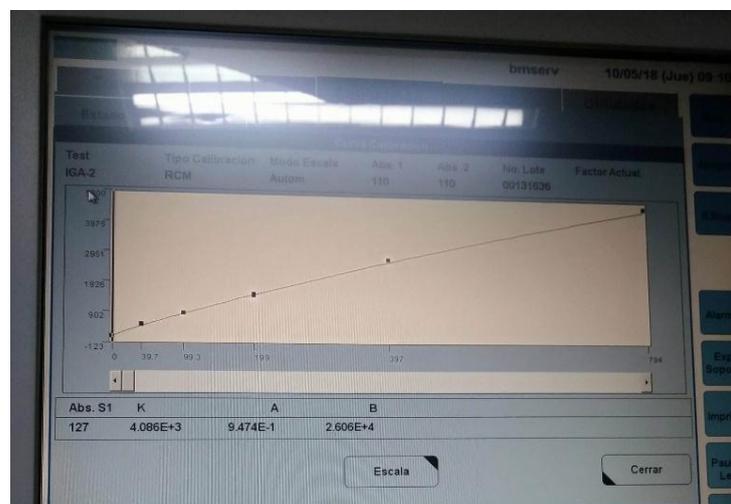
(Anderson, 2012)

ANEXO N° 4

PROTOCOLO DE CALIBRACIÓN DEL EQUIPO COBAS c 311 PARA DETERMINACIÓN DE IgA POR EL MÉTODO INMUNOTURBIDIMETRICO.

Para calibrar el equipo y realizar la curva de calibración se procederá a utilizar el Calibrador f.a.s. proteins (5 x 1ml) calibrador líquido listo para usar basado en suero humano, con número de referencia 0757507, Lote número: 00131630, Código 656, calibración de tipo RCM (Mantenimiento Centrado en Fiabilidad/Confiabilidad), calibración completa de seis puntos de la siguiente manera:

1. Abrir el frasco cuidadosamente.
2. Dejar descongelar durante 30 minutos entre 15 ° y 25 °C.
3. Homogenizar suavemente evitando la formación de espuma.
4. Dispensar en una cubeta una alícuota de 150 ul, e inmediatamente almacenar para su conservación a -20°C.
5. Procesar en igual condición que una muestra y observar la curva de calibración.
6. Los resultados de la media de la curva de calibración fueron: Abs 1: 127 mg/dl y en la Abs 2: 132 mg/dl.
7. La calibración fue aceptada por el equipo, puesto que se obtuvieron los límites e intervalos de medición requeridos, ya que el valor de referencia normal de la media del calibrador es de: 155mg/dl.
8. Posteriormente realizar el control de calidad ver en Anexo 8.



ANEXO N° 5

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES MEDIANTE EL MÉTODO DE FEHLING.

REACTIVO DE FEHLING

Conocido como Licor de Fehling, es una disolución descubierta por el químico alemán Hermann von Fehling y que se utiliza como reactivo para la determinación de azúcares reductores. Sirve para demostrar la presencia de azúcares reductores (aldosas: glucosa, ribosa, eritrosa, lactosa etc.). (De Jaime & De Jaime, 2011)

El licor de Fehling consiste en dos soluciones acuosas:

- **Solución A de Fehling:** Sulfato de cobre cristalizado 0.28 N (35 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua destilada).
- **Solución B de Fehling:** Sal de Seignette o Tartrato mixto de potasio y 1.5 N (158 g en 500 ml) en hidróxido potásico 4 N (112 g en 500 ml de agua destilada). (De Jaime & De Jaime, 2011) (Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003)

Fundamento.

El ensayo con el reactivo de Fehling se fundamenta en una reacción redox en la que el grupo aldehído (reductor) de los azúcares es oxidado a grupo ácido por el Cu^{2+} que se reduce a Cu^+ . Tanto los monosacáridos como los disacáridos reductores reaccionan con el Cu^{2+} dando un precipitado rojo de óxido cuproso. La reacción tiene lugar en medio básico por lo que es necesario introducir en la reacción tartrato sódico-potásico para evitar la precipitación del hidróxido cúprico. (De Jaime & De Jaime, 2011) (Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003)

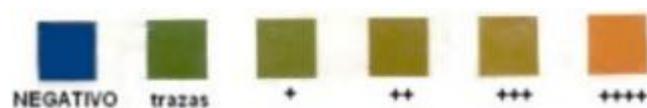
La prueba de Fehling no es específica; otras sustancias que dan reacción positiva son los fenoles, aminofenoles, benzoína, ácido úrico, catecol, ácido fórmico, hidrazobenceno, fenilhidrazina, pirogalol y resorcinol. (De Jaime & De Jaime, 2011) (Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

Método.

1. Se realiza la toma de heces, se suspende en agua destilada. La muestra deberá de ser fresca y deberá analizarse dentro de una hora después de su recolección.
2. Numerar los tubos de ensayo.
3. Se mezcla bien y se coloca las dos fracciones del reactivo en un tubo de ensayo, (Fracción A y Fracción B) junto con 15 gotitas de la muestra suspendida.
4. Calentar con el mechero durante 1 min y observar si se produce algún cambio. Si existen cuerpos reductores, la suspensión cambiara de color debido a la reacción. (De Jaime & De Jaime, 2011) (Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003)

Valores de referencia.

- Si el color de la prueba de azul transparente no precipita es negativo.
- Si el color de la prueba cambia a un color: verde no precipitado, verde precipitado, amarillo, amarillo, verde oliva, castaño, marrón, naranja o rojo ladrillo el resultado será positivo (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).



ANEXO N°6

INSERTO DE LA TÉCNICA INMUNOTURBIDIMÉTRICA PARA DETERMINACION DE NIVELES SERICOS DE INMUNOGLOBULINA A.

0002657243190c501V10.0

IGA-2

Tina-quant IgA Gen.2

cobas®

Información de pedido

REF	CONTENT	ID del sistema	Analizadores adecuados para el cobas c pack
03507343 190	Tina-quant IgA Gen.2 150 pruebas	07 6786 7	Roche/Hitachi cobas c 311, cobas c 501/502
11355279 216	Calibrator f.a.s. Proteins (5 x 1 mL)	Código 656	
11355279 160	Calibrator f.a.s. Proteins (5 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 656	
10557897 122	Precinorm Protein (3 x 1 mL)	Código 302	
10557897 160	Precinorm Protein (3 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 302	
11333127 122	Precipath Protein (3 x 1 mL)	Código 303	
11333127 160	Precipath Protein (3 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 303	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	Código 300	
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	Código 300	
03121291 122	Precipath PUC (4 x 3 mL)	Código 241	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Código 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Código 391	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, para los EE.UU.)	Código 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Código 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Código 392	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, para los EE.UU.)	Código 392	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	ID del sistema 07 6869 3	

Español

Información del sistema

Analizadores **cobas c** 311/501:

IGA-2: ACN 458 (aplicación estándar)

IGAP2: ACN 295 (Aplicación sensible)

Analizadores **cobas c** 502:

IGA-2: ACN 8458 (aplicación estándar)

IGAP2: ACN 8295 (Aplicación sensible)

Uso previsto

Test in vitro para la determinación cuantitativa de IgA en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**.

Características^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12}

La IgA constituye el 13 % de las inmunoglobulinas plasmáticas y protege la piel y las mucosas de microorganismos. Por su capacidad para fijar toxinas y en combinación con la lisozima, desarrolla propiedades antibacterianas y antiviricas. Es la inmunoglobulina que predomina en secreciones corporales tales como el calostro, la saliva y el sudor. La IgA secretada sirve de defensa contra infecciones locales y juega un papel importante en la fijación de antígenos provenientes de alimentos en el intestino. En el suero, la IgA se halla en forma de monómero, dímero o trímero, mientras que en las secreciones del organismo está presente exclusivamente como dímero con una cadena adicional (componente de la secreción).

Concentraciones elevadas de IgA policlonal se observan en hepatopatías crónicas, infecciones crónicas, enfermedades autoinmunes (artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico), en la sarcoidosis y el síndrome de Wiscott-Aldrich. La concentración de IgA monoclonal aumenta en los mielomas de IgA.

La síntesis de IgA se reduce con enfermedades de inmunodeficiencia congénita y adquirida como lo es la agammaglobulinemia (enfermedad de Bruton). Las concentraciones de IgA disminuyen en gastroenteropatías con pérdida de proteínas y por quemaduras con pérdida de piel.

Debido a que la síntesis de la IgA se inicia tardíamente, su concentración en el suero de niños es inferior a la de los adultos.

El empleo de anticuerpos específicos para determinar las proteínas séricas se ha convertido en un importante instrumento diagnóstico. Fueron Pope y Healey quienes observaron por primera vez en 1938 la capacidad de los complejos antígeno-anticuerpo para dispersar la luz, lo cual fue confirmado más tarde por Gitlin y Edelhoch. Ritchie empleó la turbidimetría para la determinación cuantitativa de proteínas, la cual también puede efectuarse por el método nefelométrico. El incremento de la polimerización al añadir polietilenglicol (PEG) para mejorar la sensibilidad del test y acelerar la

formación del complejo antígeno-anticuerpo fue documentada por Lizana y Helsing.

La prueba de IgA de Roche se basa en el principio de aglutinación inmunológica.

Adicionalmente a la aplicación estándar (test IGA-2), se ofrece una aplicación sensible (test IGAP2) concebida para la determinación cuantitativa de bajas concentraciones de IgA, p. ej. en muestras pediátricas.

Las así denominadas paraproteínas secretadas en gammapatías monoclonales (inmunoglobulinemia monoclonal) pueden diferir de las respectivas inmunoglobulinas de origen policlonal en tamaño y en la composición de sus aminoácidos. Esto puede perjudicar la fijación del anticuerpo y dificultar una cuantificación precisa.

Principio del test

Prueba inmunoturbidimétrica

Los anticuerpos anti-IgA reaccionan con el antígeno de la muestra para formar un complejo antígeno-anticuerpo. La aglutinación resultante se mide turbidiméricamente. Al añadir PEG, la reacción avanza rápidamente hacia el punto final, incrementándose así la sensibilidad de la prueba y reduciéndose simultáneamente el riesgo de obtener resultados falsos negativos por muestras que contienen un exceso de antígeno.

Reactivos - Soluciones de trabajo

R1 Tampón TRIS: 20 mmol/L, pH 8.0; NaCl: 200 mmol/L; polietilenglicol: 3.6 %; conservante; estabilizadores

R2 Anticuerpo anti-IgA humana (cabra), dependiente del título; tampón TRIS: 20 mmol/L, pH 8.0; NaCl: 150 mmol/L; conservante

R1 está en la posición B y R2 en la posición C.

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observe las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Elimine los residuos según las normas locales vigentes.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Para los EE.UU.: uso exclusivamente bajo prescripción.

El presente estuche contiene componentes que han sido clasificados por la directiva CE No. 1272/2008 de la siguiente manera:

**Peligro**

H318 Provoca lesiones oculares graves.

Prevención:

P280 Llevar gafas/máscara de protección.

Respuesta:

P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLÓGICA o a un médico.

Las indicaciones de seguridad del producto corresponden primordialmente a las directivas del sistema globalmente armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (GHS por sus siglas en inglés) válidas en la UE.

Contacto telefónico internacional: +49-621-7590, en los EE.UU.: 1-800-428-2336

Preparación de los reactivos

Los reactivos están listos para el uso.

Conservación y estabilidad**IGA-2**

Sin abrir, a 2-8 °C: véase la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del **cobas c** pack.

En uso y refrigerado en el analizador: 12 semanas

Diluyente NaCl al 9 %

Sin abrir, a 2-8 °C: véase la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del **cobas c** pack.

En uso y refrigerado en el analizador: 12 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Emplear únicamente tubos o recipientes adecuados para recoger y preparar las muestras.

Sólo se han analizado y encontrado aptos los tipos de muestras aquí mencionados.

Aplicación estándar (IGA-2)**Suero**

Plasma tratado con heparina de litio y EDTA dipotásico.

Aplicación sensible (IGAP2)**Suero**

Plasma tratado con heparina de litio y EDTA dipotásico.

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de los tubos.

Al emplear tubos de plasma con EDTA dipotásico parcialmente llenados pueden producirse resultados erróneos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

Estabilidad:¹³

8 meses a 15-25 °C

8 meses a 2-8 °C

8 meses a (-15)-(-25) °C

Material suministrado

Consultar la sección "Reactivos - Soluciones de trabajo" en cuanto a los reactivos suministrados.

Material requerido adicionalmente (no suministrado)

Consultar la sección "Información de pedido"

Equipo usual de laboratorio

Realización del test

Para garantizar el funcionamiento óptimo del test, observe las instrucciones de la presente metódica referentes al analizador empleado. Consulte el manual del operador apropiado para obtener las instrucciones de ensayo específicas del analizador.

Roche no se responsabiliza del funcionamiento de las aplicaciones no validadas por la empresa. En su caso, el usuario se hace cargo de su definición.

Aplicación para suero y plasma

Aplicación estándar (IGA-2)

Definición del test en el analizador cobas c 311

Tipo de medición	2 puntos finales		
Tiempo de reacción / Puntos de medición	10 / 6-31		
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm		
Dirección de reacción	Aumentando		
Unidades	g/L (µmol/L, mg/dL)		
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)		
R1	120 µL	–	–
R2	38 µL	–	–
Volúmenes de muestra	<i>Muestra</i>	<i>Dilución de muestra</i>	
		<i>Muestra</i>	<i>Diluyente (NaCl)</i>
Normal	5 µL	9 µL	180 µL
Disminuido	2.7 µL	2 µL	180 µL
Aumentado	2.4 µL	–	–

Definición del test en los analizadores cobas c 501/502

Tipo de medición	2 puntos finales		
Tiempo de reacción / Puntos de medición	10 / 10-46		
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm		
Dirección de reacción	Aumentando		
Unidades	g/L (µmol/L, mg/dL)		
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)		
R1	120 µL	–	–
R2	38 µL	–	–
Volúmenes de muestra	<i>Muestra</i>	<i>Dilución de muestra</i>	
		<i>Muestra</i>	<i>Diluyente (NaCl)</i>
Normal	5 µL	9 µL	180 µL
Disminuido	2.7 µL	2 µL	180 µL
Aumentado	2.4 µL	–	–

Aplicación sensible (IGAP2)

Definición del test en el analizador cobas c 311

Tipo de medición	2 puntos finales		
Tiempo de reacción / Puntos de medición	10 / 6-22		
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm		
Dirección de reacción	Aumentando		
Unidades	g/L (µmol/L, mg/dL)		
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)		
R1	120 µL	-	
R2	38 µL	-	
Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	10 µL	9 µL	75 µL
Disminuido	7 µL	5 µL	93 µL
Aumentado	2.7 µL	-	-

Definición del test en los analizadores cobas c 501/502

Tipo de medición	2 puntos finales		
Tiempo de reacción / Puntos de medición	10 / 10-46		
Longitud de onda (sub/princ)	700/340 nm		
Dirección de reacción	Aumentando		
Unidades	g/L (µmol/L, mg/dL)		
Pipeteo de reactivo	Diluyente (H ₂ O)		
R1	120 µL	-	
R2	38 µL	-	
Volúmenes de muestra	Muestra	Dilución de muestra	
		Muestra	Diluyente (NaCl)
Normal	10 µL	9 µL	75 µL
Disminuido	7 µL	5 µL	93 µL
Aumentado	2.7 µL	-	-

Calibración*Aplicación estándar (IGA-2)*

Calibradores	S1: H ₂ O S2-S6: C.f.a.s. Proteins
	Multiplicar el valor del calibrador C.f.a.s Proteins específico del lote por los factores indicados a continuación a fin de determinar las concentraciones estándar de la curva de calibración de 6 puntos.
	S2: 0.100 S5: 1.00 S3: 0.250 S6: 2.00 S4: 0.501
Modo de calibración	RCM
Intervalo de calibraciones	Calibración completa - con cada lote de reactivos - si fuera necesario según los procedimientos de control de calidad

Aplicación sensible (IGAP2)

Calibradores	S1: H ₂ O S2-S6: C.f.a.s. Proteins
	Multiplicar el valor del calibrador C.f.a.s Proteins específico del lote por los factores indicados a continuación a fin de determinar las concentraciones estándar de la curva de calibración de 6 puntos.
	S2: 0.0205 S5: 0.252 S3: 0.0609 S6: 1.00 S4: 0.126
Modo de calibración	RCM
Intervalo de calibraciones	Calibración completa - con cada lote de reactivos - si fuera necesario según los procedimientos de control de calidad

Trazabilidad: El presente método ha sido estandarizado frente a la preparación de referencia BCR470/CRM470 (RPPHS - Preparación de referencia para proteínas en suero humano) del IRMM (Instituto para materiales y mediciones de referencia).¹⁴

Control de calidad

Para el control de calidad, emplear los controles indicados en la sección "Información de pedido". Adicionalmente pueden emplearse otros controles apropiados.

Aplicación estándar (IGA-2): Precinorm Protein, Precipath Protein, Precinorm U, PreciControl ClinChem Multi 1, PreciControl ClinChem Multi 2

Aplicación sensible (IGAP2): Precinorm Protein, Precipath PUC, PreciControl ClinChem Multi 1

Adaptar los intervalos y límites de control a los requisitos individuales del laboratorio. Los resultados deben estar dentro de los límites definidos. Cada laboratorio debería establecer medidas correctivas a seguir en caso de que los valores se sitúen fuera de los límites definidos.

Deben cumplirse las regulaciones gubernamentales y las normas locales de control de calidad vigentes.

Cálculo

Los analizadores Roche/Hitachi **cobas c** calculan automáticamente la concentración de analito de cada muestra.

Factores de conversión: mg/dL x 0.01 = g/L g/L x 6.25 = µmol/L
g/L x 100 = mg/dL µmol/L x 0.16 = g/L

Limitaciones del análisis - interferencias*Aplicación estándar (IGA-2):*

Criterio: Recuperación dentro de ± 10 % del valor inicial con una concentración de IgA de 0.70 g/L (4.38 µmol/L, 70 mg/dL).

Ictericia:¹⁵ Sin interferencias significativas hasta un índice I de 60 para la bilirrubina conjugada y sin conjugar (concentración de la bilirrubina conjugada y sin conjugar: aproximadamente 1026 µmol/L o 60 mg/dL).

Hemólisis:¹⁵ Sin interferencias significativas hasta un índice H de 1000 (concentración de hemoglobina: aproximadamente 621 µmol/L o 1000 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):¹⁵ Sin interferencias significativas hasta el índice L de 2000. No existe una correlación satisfactoria entre el índice L (que corresponde a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

Los factores reumatoides < 1200 UI/mL no interfieren en el test.

Efecto prozona (high-dose hook): No se producen resultados falsos por IgA hasta una concentración de 100 g/L (625 µmol/L, 10000 mg/dL) debido a un exceso de antígenos en muestras policlonales.

En condiciones normales de análisis, no se produce una reacción cruzada entre las IgA e IgG o IgM.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común empleando concentraciones terapéuticas.^{16,17}

Aplicación sensible (IGAP2):

Criterio: Recuperación dentro de $\pm 10\%$ del valor inicial con una concentración de IgA de 0.40 g/L (2.5 $\mu\text{mol/L}$, 40 mg/dL).

Ictericia:¹⁵ Sin interferencias significativas hasta un índice I de 60 para la bilirrubina conjugada y sin conjugar (concentración de la bilirrubina conjugada y sin conjugar: aproximadamente 1026 $\mu\text{mol/L}$ o 60 mg/dL).

Hemólisis:¹⁵ Sin interferencias significativas hasta un índice H de 1000 (concentración de hemoglobina: aproximadamente 621 $\mu\text{mol/L}$ o 1000 mg/dL).

Lipemia (Intralipid):¹⁵ Sin interferencias significativas hasta el índice L de 2000. No existe una correlación satisfactoria entre el índice L (que corresponde a la turbidez) y la concentración de triglicéridos.

Los factores reumatoideos < 500 UI/mL no interfieren en el test.

Efecto prozona (high-dose hook): No se producen resultados falsos por IgA hasta una concentración de 20 g/L (125 $\mu\text{mol/L}$, 2000 mg/dL) debido a un exceso de antígenos en muestras policlonales.

En condiciones normales de análisis, no se produce una reacción cruzada entre las IgA e IgG o IgM.

Fármacos: No se han registrado interferencias con paneles de fármacos de uso común empleando concentraciones terapéuticas.^{16,17}

Al igual que otros test turbidimétricos o nefelométricos, el presente test puede no proporcionar resultados exactos para muestras de pacientes con una gammopatía monoclonal, pues debido a sus características individuales, este tipo de muestras sólo puede determinarse por electroforesis.¹⁸

Para el diagnóstico, los resultados del test siempre deben interpretarse teniendo en cuenta la anamnesis del paciente, el análisis clínico así como los resultados de otros exámenes.

ACCIÓN REQUERIDA

Programación de lavado especial: Se requieren ciclos de lavado especial en caso de combinar ciertas pruebas en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**. La lista de las contaminaciones por arrastre también puede encontrarse en la versión más actual de la metódica NaOH-SMS-SmpCln1+2-SCCS. Para mayor información consulte el manual del operador. Analizador **cobas c 502**: Todos los pasos de lavado necesarios para evitar la contaminación por arrastre están disponibles a través de **cobas** link de modo que no se requiere la entrada manual de los datos.

En caso de que sea necesario, implemente el lavado especial destinado a evitar la contaminación por arrastre antes de comunicar los resultados del test.

Límites e intervalos

Intervalo de medición

Aplicación estándar (IGA-2):

0.50-8.00 g/L (3.13-50 $\mu\text{mol/L}$, 50-800 mg/dL)

Determinar las muestras con concentraciones superiores a través de la función de repetición. Con la función de repetición, las muestras se diluyen 1:8. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición se multiplican automáticamente por el factor 8.

Determinar las muestras con concentraciones inferiores por la función de repetición. En muestras con concentraciones inferiores, la función de repetición del test provoca el aumento del volumen de la muestra por un factor de 10. Los resultados son divididos automáticamente por este factor.

Aplicación sensible (IGAP2):

0.1-4.0 g/L (0.63-25 $\mu\text{mol/L}$, 10-400 mg/dL)

Determinar las muestras con concentraciones superiores a través de la función de repetición. En este caso, las muestras se diluyen de 1:3. Los resultados de las muestras diluidas por la función de repetición se multiplican automáticamente por el factor 3.

Determinar las muestras con concentraciones inferiores por la función de repetición. En muestras con concentraciones inferiores, la función de repetición del test provoca el aumento del volumen de la muestra por un factor de 2.5. Los resultados son divididos automáticamente por este factor.

Límites inferiores de medición

Aplicación estándar (IGA-2):

Límite del Blanco (LdB) y Límite de Detección (LdD)

Límite del Blanco = 0.05 g/L

(LdB) = 0.05 g/L

Límite de Detección

(LdD)

Tanto el Límite del Blanco como el Límite de Detección fueron determinados cumpliendo con los requerimientos establecidos en el protocolo EP17-A del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

El Límite del Blanco es el valor del percentil 95 obtenido a partir de $n \geq 60$ mediciones de muestras libres de analito en varias series independientes. El Límite del Blanco corresponde a la concentración debajo de la cual se encuentran, con una probabilidad del 95 %, las muestras sin analito.

El Límite de Detección se determina basándose en el Límite del Blanco y la desviación estándar de muestras de baja concentración.

El Límite de Detección corresponde a la menor concentración de analito detectable (valor superior al Límite del Blanco con una probabilidad del 95 %).

Aplicación sensible (IGAP2):

Límite de detección inferior del test

0.04 g/L (0.25 $\mu\text{mol/L}$, 4 mg/dL)

El límite de detección inferior equivale a la menor concentración medible de analito que puede distinguirse de cero. Se calcula como el valor situado a 3 desviaciones estándar por encima del estándar más bajo (estándar 1 + 3 DE, repetibilidad, $n = 21$).

Valores teóricos

Valores de referencia según la estandarización de proteínas CRM 470:^{19,20}

Adultos	0.7-4 g/L	4.38-25.0 $\mu\text{mol/L}$	70-400 mg/dL
Niños y jóvenes			
0-1 año de edad	0.00-0.83 g/L	0.00-5.19 $\mu\text{mol/L}$	0.00-83 mg/dL
1-3 años de edad	0.20-1.00 g/L	1.25-6.25 $\mu\text{mol/L}$	20-100 mg/dL
4-6 años de edad	0.27-1.95 g/L	1.69-12.19 $\mu\text{mol/L}$	27-195 mg/dL
7-9 años de edad	0.34-3.05 g/L	2.13-19.06 $\mu\text{mol/L}$	34-305 mg/dL
10-11 años de edad	0.53-2.04 g/L	3.31-12.75 $\mu\text{mol/L}$	53-204 mg/dL
12-13 años de edad	0.58-3.58 g/L	3.63-22.38 $\mu\text{mol/L}$	58-358 mg/dL
14-15 años de edad	0.47-2.49 g/L	2.94-15.56 $\mu\text{mol/L}$	47-249 mg/dL
16-19 años de edad	0.61-3.48 g/L	3.81-21.75 $\mu\text{mol/L}$	61-348 mg/dL

Roche no ha evaluado intervalos de referencia en la población pediátrica. Cada laboratorio debería comprobar si los intervalos de referencia pueden aplicarse a su grupo de pacientes y, en caso necesario, establecer sus propios valores.

Datos específicos de funcionamiento del test

A continuación, se indican los datos representativos de funcionamiento de los analizadores. Los resultados de cada laboratorio en particular pueden diferir de estos valores.

Precisión

La precisión se determinó empleando muestras humanas y controles según un protocolo interno con repetibilidad ($n = 21$) y precisión intermedia (3 alícuotas por serie, 1 serie por día, 21 días). Se han obtenido los siguientes resultados:

Aplicación estándar (IGA-2):

Repetibilidad	Media g/L ($\mu\text{mol/L}$, mg/dL)	DE g/L ($\mu\text{mol/L}$, mg/dL)	CV %
Precinorm Protein	1.95 (12.2, 195)	0.02 (0.1, 2)	1.1
Precipath Protein	3.23 (20.2, 323)	0.02 (0.1, 2)	0.7
Suero humano 1	1.55 (9.69, 155)	0.02 (0.13, 2)	1.0
Suero humano 2	2.23 (13.9, 223)	0.02 (0.1, 2)	0.9

Precisión intermedia	Media g/L (μmol/L, mg/dL)	DE g/L (μmol/L, mg/dL)	CV %
Precinorm Protein	1.95 (12.2, 195)	0.03 (0.2, 3)	1.8
Precipath Protein	3.25 (20.3, 325)	0.04 (0.3, 4)	1.4
Suero humano 3	1.93 (12.1, 193)	0.04 (0.3, 4)	1.8
Suero humano 4	3.31 (20.7, 331)	0.04 (0.3, 4)	1.1

Aplicación sensible (IGAP2):

Repetibilidad	Media g/L (μmol/L, mg/dL)	DE g/L (μmol/L, mg/dL)	CV %
Precipath PUC	0.27 (1.69, 27.0)	0.01 (0.06, 1.0)	1.8
Precinorm Protein	2.24 (14.0, 224)	0.02 (0.1, 2)	0.9
Suero humano 1	0.37 (2.31, 37.0)	0.01 (0.06, 1.0)	1.3
Suero humano 2	2.40 (15.0, 240)	0.02 (0.1, 2)	0.8

Precisión intermedia	Media g/L (μmol/L, mg/dL)	DE g/L (μmol/L, mg/dL)	CV %
Precipath PUC	0.27 (1.69, 27.0)	0.01 (0.06, 1.0)	3.2
Precinorm Protein	2.25 (14.1, 225)	0.04 (0.3, 4)	1.8
Suero humano 3	0.36 (2.25, 36.0)	0.01 (0.06, 1.0)	2.4
Suero humano 4	1.26 (7.89, 126)	0.02 (0.13, 2)	1.5

Comparación de métodos

Se han comparado los valores de IgA en muestras de suero y plasma humanos obtenidos en un analizador Roche/Hitachi **cobas c 501** (y) con los obtenidos con el mismo reactivo en un analizador Roche/Hitachi 917 (x).

Aplicación estándar (IGA-2):

Número de muestras (n) = 79

Passing/Bablok ²¹	Regresión lineal
y = 1.035x - 0.019 g/L	y = 1.027x - 0.003 g/L
τ = 0.987	r = 0.999

Las concentraciones de las muestras se situaron entre 0.500 y 7.74 g/L (3.13-48.4 μmol/L, 50.0-774 mg/dL).

Aplicación sensible (IGAP2):

Número de muestras (n) = 194

Passing/Bablok ²¹	Regresión lineal
y = 0.981x + 0.002 g/L	y = 0.956x + 0.035 g/L
τ = 0.957	r = 0.998

Las concentraciones de las muestras se situaron entre 0.166 y 4.00 g/L (1.06-25.0 μmol/L, 16.6-400 mg/dL).

Referencias bibliográficas

- Deutsch E, Geyer G, Wenger R. Laboratoriumsmedizin: Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3rd ed. Basel/Munich: Karger 1992.
- Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation, 3rd edition. Mosby Inc 1996.
- Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities - Diagnostic and Clinical Aspects. Boston, Mass: Little, Brown & Co 1975.
- Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Vol II. Philadelphia, Pa: WB Saunders 1979.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company 1995;354-357.
- Wallach J. Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston, Mass: Little, Brown & Co 1978.

- Gitlin D, Edelhoch H. A study of the reaction between human serum albumin and its homologous equine antibody through the medium of light scattering. J Immunol 1951;66:76-78.
- Ritchie RF. A simple, direct, and sensitive technique for measurement of specific protein in dilute solution. J Lab Clin Med 1967;70:512-517.
- Killingsworth LM, Savory J. Manual Nephelometric Methods for Immunochemical Determination of Immunoglobulins IgG, IgA, and IgM in Human Serum. J Clin Chem 1972;18(4):335-339.
- Lizana J, Hellsing K. Manual immunonephelometric assay of proteins, with use of polymer enhancement. Clin Chem 1974;20:1181-1186.
- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, PA:WB Saunders Co 1976;278-280.
- Heidelberger M, Kendall FE. A quantitative theory of the precipitin reaction. J Exp Med 1935;62:697-720.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, et al. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins CRM470. Report EUR 15243 EN 1993;1-186.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and identifying monoclonal gammopathies. Clin Chem 2000;46(8 Pt 2):1230-1238.
- Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748.
- Lockitch G, Halstead AC, Quigley G, et al. Age- and sex-specific pediatric reference intervals; study design and methods illustrated by measurement of serum proteins with the Behring LN Nephelometer. Clin Chem 1988;34:1618-1621.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

En la presente metódica se emplea como separador decimal un punto para distinguir la parte entera de la parte fraccionaria de un número decimal. No se utilizan separadores de millares.

Símbolos

Roche Diagnostics emplea los siguientes símbolos y signos adicionalmente a los indicados en la norma ISO 15223-1.

	Contenido del estuche
	Volumen tras reconstitución o mezcla
	Número Global de Artículo Comercial

La barra del margen indica suplementos, eliminaciones o cambios.

© 2015, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Distribuido en los EE.UU. por:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, EE.UU.
Apoyo técnico al cliente estadounidense 1-800-428-2336



ANEXO N°7

REGISTRO DE RESULTADOS OBTENIDOS

Código	Azúcares Reductores	Niveles Séricos de IgA
		Concentración expresada en mg/dl
1	NEGATIVO	-
2	NEGATIVO	-
3	NEGATIVO	-
4	POSITIVO	17 mg/dl
5	NEGATIVO	-
6	NEGATIVO	-
7	NEGATIVO	-
8	POSITIVO	100 mg/dl
9	POSITIVO	18 mg/dl
10	NEGATIVO	-
11	NEGATIVO	-
12	NEGATIVO	-
13	NEGATIVO	-
14	POSITIVO	13 mg/dl
15	NEGATIVO	-
16	NEGATIVO	-
17	NEGATIVO	-
18	POSITIVO	15 mg/dl
19	NEGATIVO	-
20	NEGATIVO	-
21	NEGATIVO	-
22	POSITIVO	45 mg/dl
23	POSITIVO	12 mg/dl
24	NEGATIVO	-
25	POSITIVO	6 mg/dl
26	NEGATIVO	-
27	NEGATIVO	-
28	NEGATIVO	-
29	POSITIVO	11 mg/dl
30	NEGATIVO	-
31	NEGATIVO	-
32	POSITIVO	88mg/dl
33	NEGATIVO	-

Código	Azúcares Reductores	Niveles Séricos de IgA
		Concentración expresada en mg/dl
34	NEGATIVO	-
35	POSITIVO	10 mg/dl
36	NEGATIVO	-
37	NEGATIVO	-
38	NEGATIVO	-
39	POSITIVO	100 mg/dl
40	POSITIVO	19mg/dl
41	POSITIVO	77mg/dl
42	NEGATIVO	-
43	NEGATIVO	-
44	POSITIVO	18mg/dl
45	NEGATIVO	-
46	POSITIVO	31 mg/dl
47	NEGATIVO	-
48	NEGATIVO	-
49	NEGATIVO	-
50	NEGATIVO	-
51	POSITIVO	17 mg/dl
52	NEGATIVO	-
53	NEGATIVO	-
54	POSITIVO	56 mg/dl
55	NEGATIVO	-
56	NEGATIVO	-
57	POSITIVO	9mg/dl
58	POSITIVO	97mg/dl
59	NEGATIVO	-
60	POSITIVO	15mg/dl
61	NEGATIVO	-
62	NEGATIVO	-
63	NEGATIVO	-
64	NEGATIVO	-
65	POSITIVO	19mg/dl
66	NEGATIVO	-
67	POSITIVO	48mg/dl

Código	Azúcares Reductores	Niveles Séricos de IgA
		Concentración expresada en mg/dl
68	POSITIVO	73mg/dl
69	NEGATIVO	-
70	NEGATIVO	-
71	NEGATIVO	-
72	NEGATIVO	-
73	NEGATIVO	-
74	NEGATIVO	-
75	NEGATIVO	-
76	NEGATIVO	-
77	NEGATIVO	-
78	NEGATIVO	-
79	NEGATIVO	-
80	POSITIVO	13mg/dl
81	NEGATIVO	-
82	POSITIVO	11 mg/dl
83	POSITIVO	56 mg/dl
84	NEGATIVO	-
85	NEGATIVO	-
86	NEGATIVO	-
87	NEGATIVO	-
88	NEGATIVO	-
89	POSITIVO	88 mg/dl
90	NEGATIVO	-
91	POSITIVO	12 mg/dl
92	NEGATIVO	-
93	NEGATIVO	-
94	POSITIVO	15 mg/dl
95	POSITIVO	17 mg/dl

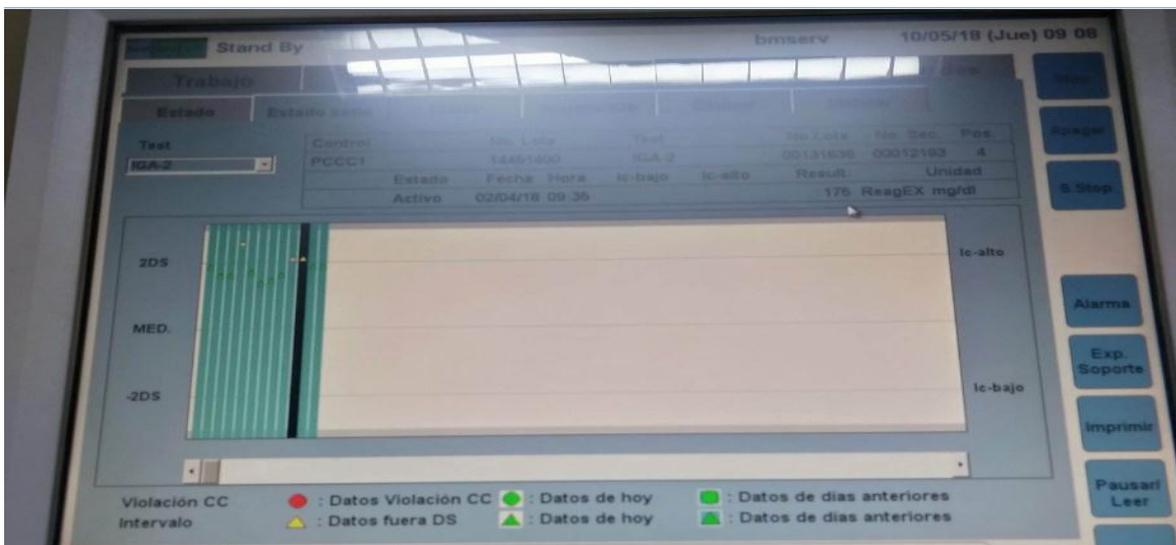
ANEXO N° 8

PROTOCOLO DE CONTROL DE CALIDAD

Para el control de calidad se procedió a emplear: PreciControl ClinChem Multi1, calibrador liofilizado basado en suero humano, destinado al control de calidad en el seguimiento de la exactitud y precisión de los métodos cuantitativos según se especifica en las fichas de valores , número de referencia 14451400, Código 391, realizar el control de calidad de la siguiente manera:

1. Abrir el frasco cuidadosamente para evitar la pérdida de liofilizado y pipetear exactamente 5.0 ml de agua destilada/desionizada, cerrar el frasco con cuidado y disolver el contenido completamente mezclando levemente una y otra vez dentro del lapso de 30 minutos.
2. Dejar estabilizar durante 15 minutos entre 15 ° y 25 °C
3. Homogenizar suavemente evitando la formación de espuma.
4. Obtener una alícuota de 200 ul y almacenar el suero de control preparado a -20°C de forma inmediata, su validez es de máximo 28 días desde su congelación. Procesar en igual condición que una muestra.
5. El resultado obtenido en el control de calidad es: 175 mg /dl, valor que se encuentra dentro de los valores de referencia normales expuestos a continuación.

Short name / component	Methods	ACN	Value	Range	1s	Unit
IGA-2 Immunoglobulin A	immunoturbidimetric Gen.2 standard serum, plasma	458	1.48	1.12 - 1.84	0.12	g/l
			9.25	7.03 - 11.47	0.74	µmol/l
			148	112 - 184	12	mg/dL



ANEXO N°9
VALIDACIÓN Y ENTREGA DE RESULTADOS

VALIDACIÓN DE RESULTADOS

La validación de resultados se realizó bajo la supervisión de la responsable del Laboratorio Clínico del Centro de Salud No1 Dra. Betty Barriga, Mg. Sc., quien realizó la revisión de cada uno de los resultados a ser entregados.

ENTREGA DE RESULTADOS



FIG 1: Entrega de resultados a la Dra. Elsy Rhossmay Vega León Pediatra del Centro de Salud No1, quien a su vez realizó la difusión de resultados a los padres de familia de los pacientes participantes de la investigación.

ANEXO N° 10

FORMATO DE RESULTADOS



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

Paciente: xxxxxxxxx
Edad: 1 año 5 meses
Sexo: Femenino
Muestra No: 4
FECHA: 03/09/2017

EXAMEN: Azúcares Reductores	
MUESTRA No	RESULTADO
4	POSITIVO

Técnica: Método de Fehling.

EXAMEN: INMUNOGLOBULINA IgA		
RESULTADO	UNIDADES	VALORES DE REFERENCIA
19	mg/dl	0-1 año : 0.00 – 83 mg/dl 1-3 años: 20.0 – 100 mg/dl

Técnica: Método Inmunoturbidimétrico.

.....
FIRMA DEL RESPONSABLE



LABORATORIO CLÍNICO

NOMBRE: XXXXXX
No. MUESTRA: 171103-001
CEDULA: XXXXXX

MEDICO: DR. GENERAL
FECHA: 03 09 2017
ANALIZADOR: COBAS C 311

	<u>INMUNOQUIMICA</u>	
	<u>resultado</u>	<u>V.R.</u>
IgA:	17 mg/dl	0-1 años: 00,0 - 83mg/ dl 1-3 años: 20,0 -100 mg/ dl 4-6 años : 27,0 - 195 mg/ dl 7 a 9 años: 34,0 - 305 mg/dl 10 a 11 años: 53,0 - 204 mg/ dl 12 a 13 años: 58,0 - 358 mg /dl


Lic. Ulmar B. Jiménez Peña
LABORATORISTA
L: 002 #: 091 N° 273
SEVSCFP: 1068-13-020197

ANEXO N° 11

FOTOS RELATORIAS

TOMA DE MUESTRAS

MUESTRA DE HECES



FIG 2: Toma de muestra de heces a paciente participante de la investigación realizada en el Centro de Salud No1 de Loja.

MUESTRA SANGUINEA



FIG 3: Toma de muestra de sanguínea a paciente participante de la investigación realizada en el Centro de Salud No1 de Loja.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS



FIG 4 y 5: Procesamiento de las muestras de heces utilizando el Método de Fehling para determinación de azúcares reductores.

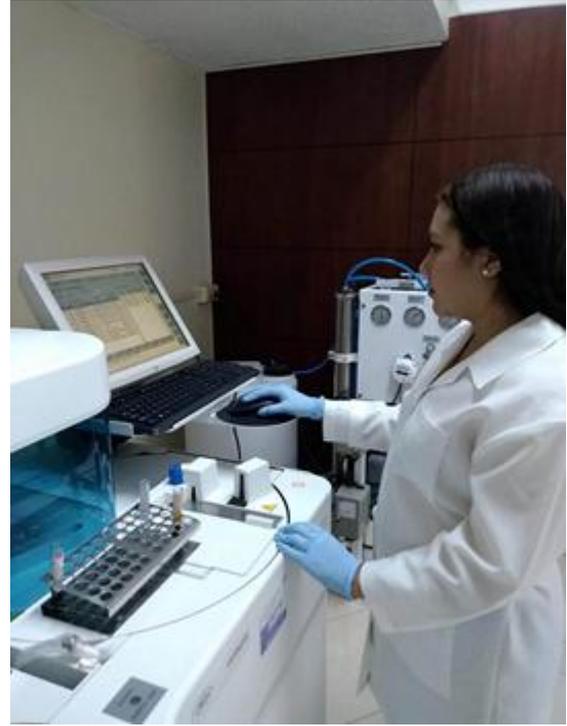
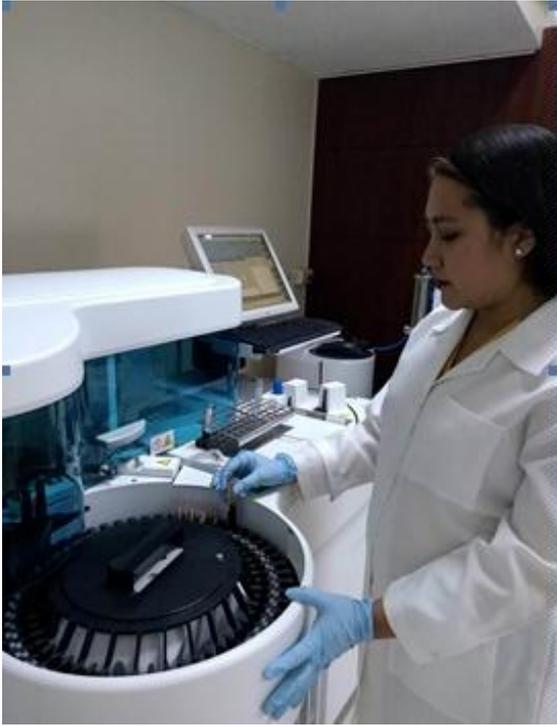


FIG 6 y 7: Procesamiento de las muestras sanguíneas, en el equipo Cobas c 311 por el Método Inmunoturbidimétrico para la determinación de niveles séricos de IgA, realizado en el Laboratorio Clínico de la Clínica Nataly.

ANEXO N° 12

CERTIFICACIÓN DE HABER REALIZADO EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS SANGUÍNEAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO DE LA CLÍNICA NATALY, OTORGADO POR LA DIRECTORA DEL LABORATORIO.



LABORATORIO CLÍNICO

Loja, 29 de septiembre del 2017

Ing. Maritza Cevallos

Directora del Laboratorio Clínico de la Clínica Nataly.

A petición verbal de la interesada Certifico:

Que la Sra. **DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO**, con C.I. 1104746449 egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, realizó el procesamiento de muestras sanguíneas para la prueba de Ig A por el método Inmunoturbidimétrico, a 31 niños menores de dos años; con el objetivo de obtener los resultados respectivos para ingresar en su proyecto de tesis denominado: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SÉRICOS DE INMUNOGLOBULINA A EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA**

Es todo cuanto puedo informar en honor a la verdad y faculta a la interesada hacer uso de la presente certificación en lo que estime conveniente

Atentamente,

Ing. Maritza Cevallos

DIRECTORA DEL LABORATORIO CLINICO DE LA CLINICA NATALY



ANEXO N° 13

CERTIFICACIÓN DE HABER REALIZADO LA ENTREGA Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS, OTORGADO POR DRA. ELSY RHOSSMARY VEGA LEÓN, PEDIATRA DEL CENTRO DE SALUD No1 DE LOJA.

Loja, 02 de octubre del 2017

Dra. Elsy Rhossmary Vega León

Médico Pediatra del Centro de Salud No1 de Loja.

Certifico:

Que la Sra. **DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO**, egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico del Área de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja , realizo la entrega de resultados de los 95 pacientes participantes del estudio denominado: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA**, mismos que reposan en la historia clínica de cada paciente y a su vez fueron difundidos por mi parte a cada padre de familia.

Es todo cuanto puedo informar en honor a la verdad y faculto a la interesada hacer uso de la presente certificación en lo que estime conveniente

Atentamente,

Dra. Rhossmary Vega L.
PEDIATRA - NEONATOLOGA
Reg. M.S.P. 117 Folio 38

.....
Dra. Elsy Rhossmary Vega León

Médico Pediatra del Centro de Salud No1 de Loja.



ANEXO N° 14

**CERTIFICACIÓN DE HABER REALIZADO LA TRADUCCIÓN DEL ESPAÑOL
AL INGLÉS DEL RESUMEN DE LA PRESENTE INVESTIGACIÓN EN UN
INSTITUTO DE IDIOMAS CALIFICADO.**



ANEXO N° 15
PROYECTO DE TESIS

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO

**TEMA: RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE
INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS
NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS
MENORES DE DOS AÑOS QUE ACUDEN AL
CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA**

PROYECTO DE TESIS PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
LICENCIADA EN LABORATORIO
CLINICO.

AUTORA:
DANIELA ALVARADO JARAMILLO

LOJA – ECUADOR

2016

1. TEMA

**RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE
INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS
NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS
MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL
CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA.**

2. PROBLEMÁTICA

La evolución del niño desde el momento del nacimiento puede verse alterado por situaciones de diversa índole; en ocasiones puede darse por condiciones fisiológicas de inmadurez o por patología que afectan el aparato digestivo, la misma que puede ser de origen infecciosa, alérgica o metabólica.

Las proteínas de la leche son las primeras en las que el sistema inmune se pone en contacto, desarrollando tolerancia inmunológica o en el menor de los casos sensibilización. En la intolerancia a la lactosa existe un déficit de enzima lactasa (hipolactasia) lo que conduce a una incapacidad por parte del intestino delgado para digerirla y transformarla en sus constituyentes glucosa y galactosa. (Terrés, 2002)

La Inmunoglobulina A (Ig A) es un anticuerpo que desempeña un papel crítico en la inmunidad mucosal. En el niño la Ig A llega por la leche y lo protege de infecciones intestinales por agentes patógenos.

En personas con deficiencia de Ig A se encuentran en la sangre elevadas concentraciones de anticuerpos contra la leche, posiblemente debido a que algunos antígenos de esta ingresan al organismo en ausencia de la Ig A en la mucosa intestinal. La deficiencia de Ig A puede ser un factor desencadenante de enfermedades alérgicas y autoinmunes. (Gavilanes, 2002).

El diagnóstico de la deficiencia selectiva de Ig A se sospecha comúnmente por la existencia, ya sea recurrente o crónica, de infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes o diarrea crónica (Zieve, 2014).

Los niños que presentan intolerancia a la lactosa la manifiestan a través de la producción de diarreas, gases, malestar estomacal entre otros, en el cuadro agudo de la enfermedad existe pérdida de líquidos y nutrientes que de no ser manejada adecuadamente puede producir la muerte; la persistencia crónica del padecimiento puede generar desnutrición y detención del crecimiento y desarrollo en edades pediátricas (Terrés, 2002).

Las complicaciones de la intolerancia a la lactosa son desequilibrio hidroelectrolítico, diarrea persistente y malabsorción intestinal, que pueden llevar al paciente a desnutrición.

La intolerancia a la lactosa también ha sido señalada como un factor predisponente en la neumatosis intestinal. La edad en la que más frecuentemente se presenta el cuadro clínico, es en el lactante menor (Izquierdo, 2011).

A nivel Mundial la intolerancia a los hidratos de carbono ha sido reconocida desde hace varias décadas como responsable directa o indirecta de la iniciación o prolongación de ciertas diarreas infantiles (Terrés , 2002).

Aproximadamente un 50% de los pacientes que padecen de esta enfermedad presentan las primeras manifestaciones durante los primeros años de vida, además estudios realizados asocian a la intolerancia a la lactosa paralelamente con la edad, y hacen referencia a que no existen diferencias en la prevalencia entre uno y otro sexo (Terrés , 2002).

La prevalencia de la mala digestión de la lactosa varía ampliamente entre países, razas y poblaciones. En la población del norte de Europa se encuentra una prevalencia baja, de 1-3% en Dinamarca, Gran Bretaña, Holanda y Suecia. En EUA se encuentra una prevalencia del 25% (Terrés, 2002).

En Colombia se esperaría una prevalencia de hipolactasia cercana al 50%. (OMS, 1991) La intolerancia a la lactosa adquirida, es la más frecuente en México alcanzando una frecuencia de hasta el 77% en niños hospitalizados con diarreas graves mientras que la intolerancia congénita a la lactosa es muy rara, habitualmente la forma adquirida es reversible. (Terrés , 2002)

A nivel del Ecuador la intolerancia a la lactosa es un problema de salud del cual no existe mucha información, sin embargo un estudio aislado, realizado por el Instituto Ecuatoriano de Enfermedades Digestivas y Pélvicas de Manabí (IECED), en 500 pacientes ha demostrado que el 50 % de la población investigada presentaba esta patología, así en el centro y en el sur del país es de hasta 33 %, en tanto que en el norte del país es tan sólo de 16 %. (Lukashok , 2010)

En un estudio realizado sobre la Intolerancia a la lactosa durante el año 2011 en los Centros de Salud Pública del Cantón Cuenca, se examinaron las muestras de heces de 115 niños menores de un año con diarrea aguda obteniéndose como resultado un 40.9% de lactantes entre las edades de 0 a 3 meses intolerantes a la lactosa (Castillo , 2011).

A nivel local, en el año 2011 se llevó a cabo un estudio sobre la intolerancia a la lactosa en niños menores de dos años, en el Centro de la Salud No 1 de la ciudad de Loja, en el cual se dio a conocer que de 63 pacientes, el grupo comprendido entre los 12 a 17 meses de edad con un 55% fue el más afectado (Paredes, 2011).

En la actualidad no se presentan estudios para determinación de la IgA en relación a la presencia de intolerancia a la lactosa , con frecuencia debido a los altos costos ;sin embargo se pudo recopilar un estudio realizado a 36 niños menores de 6 años con diagnóstico de diarrea crónica inespecífica, atendidos en el Instituto de Gastroenterología de la Habana Cuba en el año 2012. El principal trastorno inmunológico presente son los niveles séricos bajos de IgA. (Hernández, D., García, E. , Vega, H., y Lazo, S. 2013).

Al comprender las consecuencias que puede traer la intolerancia a la lactosa y su relación con los niveles séricos de IgA se ha considerado importante investigar si se está presentando en el niño una disminución en su respuesta inmunológica producto de esta patología; y así coadyuvar al diagnóstico oportuno de esta.

En consecuencia ante lo expuesto, me he planteado la siguiente interrogante: **¿CUÁL ES LA RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IgA EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA EN EL PERIODO SEPTIEMBRE 2016 – FEBRERO 2017?.**

3. JUSTIFICACIÓN

La enfermedad diarreica es un síndrome de etiología multicausal puede ocurrir como consecuencia de la alteración en la digestión y absorción de nutrimentos como la intolerancia a la lactosa; la cual produce diarrea debido al aumento de la osmolaridad dentro del intestino, la misma que va a traer consigo una serie de signos y síntomas entre los más importantes la deshidratación y desnutrición. (Olarde, 1992)

El conocimiento que debe tenerse acerca de la intolerancia a la lactosa o azúcar de la leche es de suma importancia para la población. Como es conocido, existen niños que padecen esta anomalía y sin embargo, los padres no están informados lo suficiente para poder corregir este problema (Moreano, 2015).

Si un niño presenta esta irregularidad, debe ser objeto de preocupación para los padres de los infantes, pues el consumo de la leche y sus derivados es vital en el crecimiento físico e intelectual de los niños (Moreano, 2015).

La función de la IgA es de importancia es en la prevención de las enfermedades alérgicas, debido a que se une a los antígenos que normalmente se ingieren en los alimentos bloqueando su paso al torrente circulatorio. El diagnóstico de la Deficiencia Selectiva de IgA se sospecha comúnmente por la existencia, ya sea recurrente o crónica, de infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes o diarrea crónica. (Rojas, 2014)

En el campo de la salud y en especial la atención a nuestros niños es fundamental la intervención de Laboratorio Clínico como un aporte fundamental para los médicos pediatras en el diagnóstico de niños que padecen de intolerancia a lactosa y a su vez relacionaremos como los niveles séricos de IgA pueden alterar la inmunidad en los niños.

Por la antes mencionado se considera necesario como futuros profesionales de Laboratorio Clínico, realizar este estudio en niños menores de dos años que acuden al Centro de Salud No 1 presentando diarreas; enfocándonos en utilizar los resultados de la investigación para establecer la relación entre la presencia de intolerancia a la lactosa y como afecta los niveles séricos de IgA en la inmunidad de la población de estudio, además de considerarse un estudio de importancia para el establecimiento de salud.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Establecer la relación entre la presencia de intolerancia a la lactosa y los niveles séricos de Ig A en niños menores de 2 años que acuden al Centro de Salud No 1 de Loja.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la presencia de intolerancia a la lactosa a través de la prueba de azúcares reductores en heces diarreicas de los niños que conforman la población de estudio.
2. Determinar los niveles séricos de Ig A a través de método de Elisa, en los pacientes que resultan positivos a la prueba de azúcares reductores.
3. Correlacionar la presencia de intolerancia a la lactosa en los niveles séricos de Ig A en la población seleccionada.
4. Difusión de resultados de la investigación al personal médico de la institución y a los padres de familia de los menores que conforman la población de estudio.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Enzimas Digestivas

Las enzimas digestivas, son proteínas complejas que son segregadas por glándulas digestivas que vierten su contenido al tubo digestivo; se trata de una digestión extracelular. Actúan sobre las estructuras químicas básicas del alimento (proteínas, lípidos y carbohidratos), participan como catalizadores en la digestión y absorción de nutrientes en el tracto intestinal. Actúan de una manera muy específica sobre cada nutriente para que así puedan ser aprovechados a nivel celular (kelley, 1992).

5.1.1 Tipos

Enzimas del tracto digestivo:

ENZIMA	ACTÚA SOBRE	REACCIONA CON	ACTÚA EN	ACIDEZ DEL MEDIO
Ptialina	Almidones	Mono y disacáridos	Boca	Medio ligeramente básico
Amilasa	Almidones y azúcares	Glucosa	Estómago y páncreas	Medio moderadamente Acido
Pepsina	Proteínas	Péptido y aminoácidos	Estómago	Medio muy ácido
Lipasa	Grasas	Ácidos grasos	Páncreas e intestino	Medio alcalino
Lactasa	Lactosa (leche)	Glucosa y galactosa	Intestino	Medio ácido

(Sanchez, 2007).

5.1.2 Lactasa

La lactasa o hidrolasa fluorizina lactasa es una enzima que se localiza en la superficie apical de la membrana en cepillo de los enterocitos del intestino. La concentración es máxima en las primeras porciones del yeyuno, es más baja en el duodeno y en el yeyuno distal, mínimo en el íleon terminal y nula en el estómago y colon. Pertenece a la familia de las disacaridasas, que son las enzimas que se encargan de romper los disacáridos en los monosacáridos que los forman.

La actividad lactásica comienza en el enterocito en el tercer mes de la gestación, su actividad se incrementa progresivamente hasta alcanzar el máximo al final del embarazo, muestra su máxima actividad en el momento del nacimiento y durante el período de lactancia para declinar tras el destete a menos de una décima parte de la capacidad funcional máxima (Tocoian, 2006).

5.1.3 Función de la Lactasa

La función de la enzima lactasa (B-D-galactosidasa) es romper los disacáridos en los monosacáridos que los forman, es decir, hidrolizando la lactosa. La actividad de la lactasa se aumenta en el ser humano en las fases finales de la gestación y se mantiene en niveles altos hasta los tres años de edad aproximadamente, después de lo cual comienza a declinar su actividad de manera fisiológica, encontrándose generalmente en el adulto una deficiencia de ésta (Usme, 2013).

4.2 Definición de lactosa

La lactosa es un disacárido compuesto por galactosa y glucosa, que se encuentra en la leche de los mamíferos con una concentración inversamente relacionada con su contenido graso y proteínico. Para su absorción, la lactosa precisa de un primer paso de hidrólisis, que se lleva a cabo en el intestino delgado por una beta-galactosidasa, la lactasa-florizina hidrolasa, más conocida como lactasa (Arroyo y Alcedo, 2004).

5.2.1 Estructura, metabolismo y absorción de la lactosa

El disacárido lactosa (β galactosa 1,4 glucosa- C₁₂, H₂₂, O₁₁) es el único azúcar presente en la leche de todos los mamíferos, requiere la enzima lactasa para descomponerlo en glucosa y galactosa.

Por poseer un grupo aldehídico libre, la lactosa es un azúcar reductor. Cabe señalar que el poder reductor de la lactosa es más débil que el de la glucosa, pero aumenta considerablemente cuando es hidrolizada.

Una vez que la lactosa es hidrolizada en sus monosacáridos constituyentes, es el transportador de glucosa dependiente de sodio (el SGLT1) el encargado de incorporarlos al interior del enterocito contra un gradiente de concentración, mediante un sistema de transporte activo. Este co-transportador humano ha sido clonado y secuenciado. Está formado por una secuencia de 664 aminoácidos y no presenta homología con los transportadores de glucosa mediante difusión facilitada, la familia GLUT.

El transporte de hexosas mediante el SGLT1 conlleva un transporte de sodio en la misma dirección. Estudios cinéticos sugieren que son dos moléculas de sodio las que penetran en el enterocito por cada molécula de hexosa incorporada. El mecanismo propuesto se basa en la formación de un complejo Na⁺ - hexosa - transportador en la membrana de borde en cepillo del enterocito provocado por el gradiente de Na⁺ a ambos lados de la membrana. El Na⁺, una vez unido al transportador, aumentaría la afinidad de éste por las hexosas y, al separarse el Na⁺ del transportador, la afinidad por las hexosas unidas disminuiría, abandonando al transportador ya en el interior de la célula. La energía para este transporte activo proviene del gradiente electroquímico de sodio a ambos lados de la membrana de borde en cepillo. Este gradiente de sodio es mantenido por la 3Na⁺/2K⁺-ATPasa de la membrana basolateral, que bombea los iones de sodio co-transportado fuera del enterocito. El resultado neto es que por cada molécula de glucosa que atraviesa la membrana de borde en cepillo dos iones de sodio (y dos aniones) son también transportados a través del epitelio (Tocoian, 2006).

5.2.2 Intolerancia a la lactosa

La intolerancia a la lactosa es resultado de una insuficiencia de la enzima lactasa, que es normalmente producida por las células que cubren el intestino delgado. La lactasa degrada el azúcar de la leche en formas más simples (galactosa y glucosa) después pueden ser absorbidas en la corriente sanguínea (Gervilla , 2011).

5.2.3 Causas de la intolerancia a la lactosa

❖ Causas

La intolerancia a la lactosa se presenta cuando el intestino delgado no produce suficiente enzima lactasa. Las enzimas le ayudan al cuerpo a absorber los alimentos. El hecho de no tener suficiente lactasa se denomina deficiencia de lactasa. En las personas de raza blanca, generalmente comienza a afectar a los niños mayores de 3 años; mientras que en las personas de raza negra, la afección a menudo ya se presenta a los dos años de edad.

La actividad de la lactasa es alta y vital durante la infancia, pero en la mayoría de los mamíferos, incluyendo los humanos, disminuye de forma fisiológica a partir del destete, los niños que son pre término tendrán un riesgo mayor de padecer de intolerancia a la lactosa. Diversos estudios han mostrado que en este grupo de niños la actividad de la lactosa es inferior; sin embargo, no se manifiesta clínicamente una intolerancia ya que parece ser más activa la lactasa que en otras edades. A pesar de esto, si el recién nacido, además de ser prematuro sufre de problemas intestinales como diarrea, o extra intestinales como hipoxia, insuficiencia respiratoria o enfermedades sistémicas graves, la incidencia de la intolerancia se hace manifiesta e inclusive puede ser un factor de desequilibrio metabólico importante en este grupo de pacientes.

A partir de los 2 años la actividad de la lactasa desciende bruscamente hasta llegar 5-10% de los valores del lactante en la época escolar. Aunque la deficiencia primaria de lactasa se puede presentar con un inicio relativamente agudo, su desarrollo generalmente es sutil y progresivo durante muchos años (Ojeda, 2011).

Las causas de la intolerancia a la lactosa abarcan:

- Infecciones en el intestino delgado a raíz de virus o bacterias, lo cual puede dañar las células que lo recubren (con mayor frecuencia en niños) (Ojeda, 2011).
- Enfermedades intestinales como el esprúe celíaco (Ojeda, 2011).

5.2.4 Déficit de lactasa

Se presenta de tres formas:

- **Deficiencia congénita de la lactasa:** Es un trastorno de carácter autosómico recesivo, en el cual recientemente se ha demostrado que las mutaciones del gen que codifica la lactasa serían la base de la enfermedad. Se caracteriza por la ausencia total o una reducción importante de la lactasa desde el nacimiento y que persiste durante toda la vida. Se presenta en el niño mayor, por lo general, a partir de los 4-5 años. Se trata de un cuadro gastrointestinal grave y dicha condición es peligrosa para la vida debido a la deshidratación y la pérdida de electrolitos, ocasionando retraso del crecimiento y diarrea infantil en la primera exposición a la leche materna.
- **Deficiencia primaria de la lactasa:** Se produce por una ausencia relativa o absoluta de actividad lactasa que se hace presente desde la infancia, lo cual se halla determinado genéticamente por la presencia de una variante del gen que la codifica, localizado en el brazo largo del cromosoma 2 . Aunque la deficiencia primaria de lactasa se puede presentar con un inicio relativamente agudo, su desarrollo generalmente es sutil y progresivo durante muchos años.
- **Deficiencia secundaria de la lactasa:** Aun cuando es más frecuente durante la infancia, se puede presentar a cualquier edad. Se produce en personas con una actividad enzimática activa, en los que la lesión difusa de la mucosa intestinal, por

diversas causas (gastroenteritis, enfermedad celíaca, resección intestinal, etc.), se acompaña de una reducción de la actividad de todas las disacaridasas, siendo la más afectada la enzima lactasa. La evolución dependerá de la gravedad y la duración del daño originado en la mucosa y generalmente, es reversible una vez resuelta (Arroyo y Alcedo, 2004) (Vitoria, 1999).

5.2.5 Manifestaciones Clínicas

Las manifestaciones clínicas están directamente relacionadas con la presencia de azúcares no digeridos en el lumen intestinal, así como con el tiempo que ha transcurrido desde la ingesta de la lactosa.

Por lo tanto, las primeras manifestaciones clínicas se presentan alrededor de las primeras 2 horas después de la ingesta de la leche o producto que contenga lactosa, ya que es el tiempo calculado que tardan los azúcares en llegar al colon.

Sin embargo, durante su paso por el intestino delgado pueden empezar a dar sintomatología durante los primeros 30 minutos después de la ingesta, por lo que la diarrea será el último de los síntomas que se presenta.

Los síntomas más frecuentes son: dolor y distensión abdominal, flatulencia, diarrea, borborigmos y ocasionalmente náuseas y vómitos. Estos pueden presentarse 30 minutos o varias horas después de ingerir los alimentos que contienen el carbohidrato. En algunos casos, como consecuencia de la producción metano, se produce una disminución de la motilidad gastrointestinal y los pacientes pueden presentar estreñimiento.

La intolerancia a la lactosa también puede ocasionar síntomas sistémicos como dolores de cabeza y mareo, pérdida de la concentración, dificultad para la memoria a corto plazo, cansancio intenso, dolor muscular y articular, alergia (eczema, prurito, rinitis, sinusitis asma, arritmia cardíaca, úlceras bucales, odinofagia y aumento de la frecuencia de las micciones).

La edad en la que más frecuentemente se presenta el cuadro clínico, es en el lactante menor, como complicación de un cuadro diarreico agudo. En estos niños es característico que media hora después de ingerir la leche, muestren inquietud que pronto se acompañará de distensión abdominal moderada. Una vez establecida esta etapa, iniciará con llanto continuo, que en clínica se traduce como cólico.

Pasadas aproximadamente 2 horas de que el niño tomó la leche se inicia el cuadro diarreico, que está caracterizado por evacuaciones líquidas que se acompañan de una gran cantidad de gas y de ahí la característica denominación de explosivas. Posteriormente, en el transcurso de las siguientes horas, se agrega eritema perianal que en la medida en que no se corrija el cuadro llegará a cursar con lesiones dérmicas más profundas, como ulceraciones perianales. Es importante reconocer este cuadro clínico ya que además de llevar a los niños a deshidratación, que sería la complicación más grave, produce otros efectos. En el recién nacido puede agravar la acidosis metabólica que se presenta cuando un niño de esta edad tiene diarrea.

En el lactante se produce mala absorción de grasas y proteínas mientras el cuadro esté presente y por ende pone en riesgo se estado de nutrición. En ocasiones el cuadro clínico se confunde con otra entidad que es menos frecuente que la que estamos tratando; éste se refiere a la alergia a la proteína de la leche. En este último cuadro no se presente distensión abdominal, la diarrea no es explosiva y usualmente se acompaña de rasgos de sangre, existe vómito y palidez.

(Moreira , 2006)

5.2.6 Tipos de intolerancia a la lactosa

- **Intolerancia secundaria (mayoritaria):** La disminución de la producción de la lactosa es secundaria, ya que está provocada por un daño intestinal temporal (generalmente causado por una gastroenteritis vírica). Este tipo de intolerancia es muy frecuente en la infancia tras un episodio de gastroenteritis agudo.

- **Intolerancia primaria o genética (minoritaria):** Se produce una pérdida progresiva de la producción de la lactasa, y por tanto una pérdida gradual de la capacidad de digerir la leche. Suele darse a lo largo de la vida en ciertos grupos étnicos y tiene una causa genética. Las personas con esta intolerancia van notando como la ingesta de leche les causa cada vez más síntomas (Moreira , 2006).

4.3 Generalidades sobre la Inmunidad

Se define Inmunidad como el conjunto de mecanismos que un individuo posee para enfrentarse a la invasión de cualquier cuerpo extraño y para hacer frente a la aparición de tumores. Esta cualidad se adquiere antes del nacimiento y se madura y afianza en los primeros años de vida. En los vertebrados implica que los organismos diferencian lo propio de lo ajeno; es decir, reconocen todos sus tipos celulares. El Sistema Inmune es el responsable de conferir inmunidad. Este sistema, presente en vertebrados, alcanza su máxima complejidad en los primates y seres humanos. La ciencia encargada de estudiar estos procesos se denomina Inmunología (Tobergte y Curtis, 2013).

5.3.1 Anticuerpos o inmunoglobulinas

Los anticuerpos (Ac) o inmunoglobulinas (Ig) son proteínas globulares que participan en la defensa contra bacterias y parásitos mayores. Circulan por la sangre y penetran en los fluidos corporales donde se unen específicamente al antígeno que provocó su formación. Son glúcidos, glucoproteínas (gamma globulinas). Son moléculas formadas por una o varias unidades estructurales básicas, según el tipo de anticuerpo. Cada unidad está formada por cuatro cadenas polipeptídicas iguales dos a dos. Dos cadenas pesadas (H) y dos ligeras (L) y una cadena glucídica unida a cada una de las cadenas pesadas. Las uniones entre las subunidades proteicas se establecen por puentes disulfuro.

Las inmunoglobulinas poseen dos regiones funcionales diferentes, una que reconoce al antígeno, que es muy variable, y la otra que tiene una función efectora, que es

constante, tiene la capacidad de fijar el complemento, obrar como opsonina, facilitar el paso de anticuerpo a través de membranas. Los anticuerpos representan entre un 10 y 20% de las proteínas totales del plasma (Tobergte y Curtis, 2013).

5.3.2 Clases de inmunoglobulinas

Existen 5 clases de inmunoglobulinas. Su producción está determinada unas veces por el tipo de antígeno, otras por efecto de las citoquinas. Hay cinco tipos: Ig M, Ig G, Ig A, Ig D e Ig E que se diferencian en estructura, momento de la infección en el que aparecen, actividad y lugar donde se encuentran (sangre, leche, saliva, etc.)

- 1) **Tipo M (Ig-M).** Son los primeros que se producen frente a una infección. No tienen regiones bisagra, por lo que no se adaptan bien al antígeno. Ahora bien, al ser tan grandes y tener tantos puntos de unión, si no se unen por una parte, se unirá por otra y por eso son eficaces.
- 2) **Tipo G (Ig-G)** se generan después. Al tener regiones bisagra protegen más eficazmente que los de tipo M. Pueden atravesar la placenta y proteger al feto de las infecciones pues los fetos no tienen sistema inmunitario específico, si lo tienen innato. La presencia de anticuerpos G indica que la infección es un proceso antiguo.
- 3) **Tipo A (Ig-A).** Aparecen después de los M. Son de alta afinidad. No se encuentran en gran cantidad en el suero pero sí en las secreciones, saliva y moco, pues atraviesan las mucosas. Pueden también pasar a la leche y proteger a los lactantes. La pieza secretora y la especial configuración que pueden adoptar los protege y evita que sean degradados en ciertas zonas, como en el intestino, donde existen proteasas que podrían destruirlos.
- 4) **Tipo D (Ig-D).** Sustituyen a los M. Tienen la misma función que estos pero tienen más afinidad y se unen más fuertemente. Aparecen también como antenas en la superficie de los linfocitos B cuando estos contactan con el antígeno.

5) **Tipo E (Ig-E).** Son de alta afinidad. Tienen también la capacidad de salir a las secreciones. Tienen mala fama pues median en los procesos alérgicos y de anafilaxis (alergia a huevos, mariscos, polen). Su función es la de eliminar parásitos, sobre todo gusanos. Promueven la acción de los mastocitos y de los eosinófilos que producen proteínas que vacían a los gusanos. Es de destacar que las infestaciones por protozoos y gusanos son más corrientes que las infecciones bacterianas (Tobergte y Curtis, 2013).

5.3.3 Inmunoglobulina A

Es la inmunoglobulina más importante en la inmunidad de mucosas y la principal en la lactancia materna. Su concentración en suero es de 0.5 y 5 mg/mL, en la leche materna entre 3 y 7 mg/mL y en el calostro entre 9.5 y 10 mg/mL, su actividad está relacionada de forma esencial con la inmunidad de las mucosas donde puede actuar a niveles diferentes, evita la penetración de los antígenos en la pared del intestino, neutraliza la actividad de algunos virus y toxinas dentro y fuera de las células epiteliales, no activa la cascada del complemento, inhibe la adherencia a mucosas de *Shigella*, *V. cholerae*, *Campylobacter*, *Giardia lamblia*, *Escherichia coli*, y participa en la eliminación de inmuno complejos.

Constituye aproximadamente 15% de las inmunoglobulinas séricas y predomina en su forma secretora en saliva, lágrimas, sudor, leche humana y calostro.

La Ig A tiene una masa molecular que oscila entre 170.000 y 720.000, ya que forma estructuras poliméricas de la unidad estructural básica; la cadena H es del isotipo α , contiene un 7-12% en peso de glúcidos (Tobergte y Curtis, 2013)

5.3.3.1 Estructura, síntesis y funciones de la Ig A

La Ig A es el isotipo de anticuerpo con mayores niveles en las superficies mucosales y representa la segunda en concentración entre las inmunoglobulinas circulantes. La Ig

A secretora (SIgA) es liberada en los fluidos mucosales mediante el proceso de transcitosis, el cual involucra la unión al receptor polimérico de inmunoglobulina (IgRp) en la cara baso-lateral de las células epiteliales, seguido de liberación y translocación al lado apical en forma de complejo con el componente secretor.

La SIgA es considerada como la primera línea de defensa contra patógenos que colonizan e invaden las superficies que se encuentran cubiertas por secreciones. Es ampliamente conocido que la SIgA juega un papel importante en la protección contra infecciones causadas por enteropatógenos y virus.

La SIgA existe como una molécula polimérica compuesta de dos o más monómeros de SIgA, el peso molecular de cada monómero es de 300 kDa y está compuesto de una cadena J que las une (15.6 kDa) y un componente secretor (70 kDa). Cada monómero SIgA está formado de 4 polipéptidos, dos cadenas pesadas α y dos cadenas ligeras κ o λ unidas covalentemente por enlaces bisulfuro. El componente secretor es una proteína altamente glicosilada producida por las células epiteliales de la mucosa. Dicho componente secretor es muy importante porque estabiliza la estructura polimérica de la SIgA. Solamente los PMN neutrófilos presentan un receptor para la Ig A.

En el humano hay dos subclases de Ig A; IgA1 e IgA2. Las cadenas pesadas de IgA1 e IgA2 difieren solamente por 22 aminoácidos, tales diferencias estructurales le otorgan a la IgA2 resistencia a la acción de proteasas bacterianas que cortan específicamente a la IgA1 en la región de la bisagra. Estas proteasas que digieren a la IgA1 son producidas por varias bacterias patógenas de la mucosa y se piensa que interfieren con las propiedades protectoras de los anticuerpos SIgA.

En los fluidos internos la IgA1 constituye el 90 % de los anticuerpos Ig A; en las secreciones mucosas, la IgA1 supone un 40-60 % y la IgA2 hasta el 60 %. La resistencia intrínseca de la SIgA a la proteólisis, la cual es reforzada por la presencia del componente secretor y los oligosacáridos que porta preservan las funciones biológicas de la molécula en las secreciones. La polivalencia de la SIgA (formación de dímeros y tetrámeros) aumenta su potencial para aglutinar a las bacterias y neutralizar

toxinas, enzimas y virus. La disminución de la habilidad de SIgA para activar el complemento y opsonizar bacterias por fagocitosis puede limitar las reacciones de inflamación local y el daño al tejido mucoide (Gavilanes , Manjarrez , y Cravioto, 2002).

5.3.3.2 Deficiencia selectiva de Ig A

La Deficiencia Selectiva de Ig A es la deficiencia severa o ausencia total de la clase Ig A de inmunoglobulinas en el suero sanguíneo y secreciones.

Los individuos con Deficiencia Selectiva de Ig A no producen Ig A, sin embargo, producen todas las otras clases de inmunoglobulinas. Además, la función de los linfocitos T, células fagocíticas y sistema del complemento son normales o casi normales. Por lo tanto, esta afección es conocida como Deficiencia “Selectiva” de Ig A.

La causa o causas de la Deficiencia Selectiva de IgA son desconocidas. Es probable que existan varias causas de la Deficiencia Selectiva de IgA y que dichas causas puedan diferir de un paciente a otro. Los individuos con Deficiencia Selectiva de IgA tienen linfocitos B aparentemente normales, pero que no maduran en IgA produciendo células plasmáticas.

El diagnóstico de la Deficiencia Selectiva de IgA se sospecha comúnmente por la existencia, ya sea recurrente o crónica, de infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes o diarrea crónica en la edad infantil. El diagnóstico se establece cuando los análisis del suero sanguíneo del paciente demuestran una marcada reducción o casi ausencia de IgA presentándose una disminución en la respuesta inmunitaria del infante (Reginald, 2007).

4.4 Métodos de diagnóstico disponibles para intolerancia a la lactosa.

- **Eliminación de la leche de la dieta:** una alternativa sencilla a la prueba de detección de la malabsorción de lactosa en pacientes sospechosos de serlo es eliminar la leche de la dieta y comprobar si tiene algún efecto.
- **Test de hidrógeno espirado:** Tras la sobrecarga con leche entera o de lactosa diluida en agua, un aumento del H espirado en una cuantía superior a 20 ppm se considera como prueba evidente de mala digestión de la lactosa; se debe realizar la corrección con dosificación del CO₂ en aire espirado, sobre todo si se realiza la prueba en lactantes. Presenta una sensibilidad 69-100% y especificidad 89-100%.
- **Determinación del pH en heces:** La determinación del pH fecal es inespecífico y de baja sensibilidad, se realiza con papel indicador, para esto se introduce la tira en las heces y se compara el cambio de color con la carta de colores, normalmente el pH es de 7. Si el pH es menor de 5,5 se asume presencia de ácidos grasos volátiles, resultado de la digestión bacteriana de carbohidratos no absorbidos.
- **Prueba sanguínea:** La prueba de tolerancia o curva de lactosa, valora la actividad de la lactasa midiendo la elevación de la glucemia cada 20 o 30 minutos durante 2 horas, tras la ingestión de 50 o 100 g de lactosa. Se considera normal una elevación de 20 mg/dl sobre la cifra basal. Tiene una alta tasa de falsos positivos (hasta 30%), principalmente consecuencia de la rápida respuesta insulínica de algunos individuos. Presenta una especificidad entre 77 y 96% y una sensibilidad entre 76 y 94% (Alliende, 2007).

5.4.1 Método Específico

- **Azúcares reductores por el método de Benedict.**
- **Fundamento del Método:** El reactivo de Benedict, contiene ión cúprico formando un complejo con citrato en solución alcalina caliente. La glucosa y otras sustancias

reductoras reducen el sulfato cúprico, de color azul a sulfato cuproso formando hidróxido cuproso amarillo o de óxido cuproso rojo que es insoluble.

➤ **Valores de referencia:**

- Si el color de la prueba de azul transparente no precipita es negativo (<0.25 g/dl).
- Si el color de la prueba cambia a un color rojo ladrillo o naranja será positiva (>0.5 g/dl) (Fallis, 2013)

5.5 Métodos de diagnóstico disponibles para cuantificar los niveles séricos de Ig A.

- **Inmunodifusión radial (idr):** Consiste en una inmunoprecipitación en agarosa entre un antígeno a cuantificar y su anticuerpo específico. Se realiza incorporando uno de los dos reactivos inmunes (generalmente el anticuerpo) uniformemente en una capa de agarosa y luego introduciendo el otro reactivo en los pocillos cavados en el gel. El antígeno difunde radialmente en la mezcla gel-anticuerpo y se forma un disco o anillo de precipitado visible en un punto que depende de la relación estequiométrica antígeno-anticuerpo. Al completarse la reacción a las 24-48 Horas, se realiza la medida del diámetro del anillo de precipitación en mm² y se compara con una curva de calibración. La inmunodifusión radial es un método de evaluación sujeta a errores con la medición visual de los halos (Sánchez, 1998).
- **Turbidimetría de Inmunoglobulina A (IgA):** la inmunoglobulina A presente en la muestra precipita en presencia de anticuerpos antiinmunoglobulina A humana. La dispersión de luz generada por los complejos antígeno anticuerpo es proporcional a la concentración de inmunoglobulina A y puede ser cuantificada por turbidimetría (Sanches, 1998).

5.5.1 Método Específico:

- **Método de Elisa (IG A ELISA CUANTITATIVO)**

➤ **Fundamento del Método:** El Elisa Cuantitativo se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan

actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno anticuerpo quedará inmobilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar sobre la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

➤ **Valores de referencia normales:** (pediatría)

➤ 0 a 3 meses ⇨ de 1 a 34 mg/dl.

➤ > 3 meses a 1 año ⇨ de 8 a 91 mg/dl.

➤ > 1 año a 12 años ⇨ de 21 a 282 mg/dl.

(Sanches, 1998).

5.6 Planteamiento de hipótesis e identificación de variables.

5.6.1 Hipótesis

- La presencia de intolerancia a la lactosa tiene relación directa con la disminución de niveles sérico de Ig A en niños menores de 2 años que acuden al centro de salud no 1 de Loja.

5.6.2 Identificación de variables

- **VARIABLE INDEPENDIENTE:** Intolerancia a la lactosa.
- **VARIABLE DEPENDIENTE:** Niveles séricos de Ig A.

6. DISEÑO METODOLÓGICO

- **Tipo de estudio**

El estudio a realizar es de tipo descriptivo, prospectivo y de corte transversal.

- **Área de estudio**

Centro de Salud No 1 de Loja, ubicado en las calles: Av. Cuxibamba e Ibarra, Barrio Gran Colombia, Parroquia El Valle del cantón Loja, provincia de Loja.

- **Universo:**

El universo está constituido por el número de pacientes menores de 2 años que acuden al servicio de Pediatría del Centro de Salud N°1 de la ciudad de Loja durante el tercer trimestre del año en curso con sospecha de intolerancia a la lactosa. En este caso son 288 pacientes.

- **Muestra:**

El estudio se realizara en 90 pacientes, durante el período octubre 2016 a diciembre 2016, que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

- **Criterios de inclusión.**

- Contar con el consentimiento informado de los padres de familia, para realizar la investigación.
- Pacientes pediátricos de ambos sexos que presenten sintomatología común de intolerancia a la lactosa.
- Pacientes con antecedentes familiares de intolerancia a la lactosa.

- **Criterios de exclusión**

- No contar con el consentimiento informado de los padres de familia, para realizar la investigación.
- Encontrarse en un rango mayor a 2 años y no presentar sintomatología.
- Pacientes con diagnóstico de intolerancia a la Lactosa.

- **Operacionalización de variables:**

VARIABLES	DEFINICIÓN	INDICADOR	ESCALA								
INTOLERANCIA A LA LACTOSA	La intolerancia a la lactosa es resultado de una insuficiencia de la enzima lactasa, que es normalmente producida por las células que cubren el intestino delgado. La actividad de la lactasa es alta y vital durante la infancia, pero en la mayoría de los mamíferos, incluyendo los humanos, disminuye de forma fisiológica a partir del destete.	Presentación de precipitado en dilución de reactivo de Benedict en materia fecal, por presencia de Lactosa	<ul style="list-style-type: none"> • Negativo: Azul transparente no precipitado. • Positivo: Naranja o Rojo Ladrillo 								
NIVELES SERICOS DE IgA	La Inmunoglobulina A (IgA) es un anticuerpo que desempeña un papel crítico en la inmunidad mucosal. Se encuentra en el organismo en dos formas: la secretoria (mucosas) en secreciones: saliva, calostro, jugo intestinal, y epitelio respiratorio, y la sérica (suero) en cantidades pequeñas.	Concentración sérica de Ig A expresada en mg/dl	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Edad</th> <th>mg/dl</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 a 3 meses</td> <td>de 1 a 34</td> </tr> <tr> <td>> 3 meses a 1 año</td> <td>de 8 a 91</td> </tr> <tr> <td>> 1 año a 12 años</td> <td>de 21 a 282</td> </tr> </tbody> </table>	Edad	mg/dl	0 a 3 meses	de 1 a 34	> 3 meses a 1 año	de 8 a 91	> 1 año a 12 años	de 21 a 282
Edad	mg/dl										
0 a 3 meses	de 1 a 34										
> 3 meses a 1 año	de 8 a 91										
> 1 año a 12 años	de 21 a 282										
PACIENTES PEDIÁTRICOS	Edad pediátrica que abarca desde el nacimiento hasta el inicio de la pubertad.	Edad	<ul style="list-style-type: none"> • Neonato o recién nacido: de 0 a 28 días. • Lactante o niño de corta edad: de 1 mes a 2 años. • Niño pre-escolar: de 2 a 5 años. • Niño escolar: de 6 a 12 años. 								

Métodos, técnicas y procedimientos.

- **Fase pre-analítica:**

- Oficio dirigido al Director del Área de Salud No 1 solicitando autorización para la recolección de muestras (Anexo 1).
- Oficio dirigido a la Director del Hospital Regional Isidro Ayora de Loja solicitando autorización para el procesamiento de muestras (Anexo 2).
- Elaboración y aplicación del consentimiento informado (Anexo 3)
- Aplicación de una encuesta para la selección de pacientes en función de los criterios de inclusión y exclusión (Anexo 4)
- Elaboración del registro de datos del paciente (Anexo 5)
- Aplicación del protocolo de toma y transporte de muestra (Anexo 6 y 7).

- **Fase analítica:**

- Detección de azúcares reductores mediante el método de Benedict (Anexo 8).
- Detección de niveles séricos de Ig A mediante la técnica de Elisa (Anexo 9)

- **Fase post-analítica:**

- Registro de resultados (Anexo 10).
- Difusión de resultados.

Plan de tabulación y análisis de resultados

- La tabulación de los resultados se expresaran en frecuencia y porcentaje utilizando el programa Microsoft Excel.

7. CRONOGRAMA

ACTIVIDADES	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO
1.PRESENTACIÓN DEL PROYECTO	X						
2.APROBACION Y DESIGNACION DE DIRECTOR	XXX						
3. RECOLECCION Y ANALISIS DE MUESTRAS		XXXX	XXXX	XXXX			
4. TABULACION DE RESULTADOS					XXXX		
5.REDACCION DEL INFORME						XXXX	XXX
6. ENTREGA DEL INFORME FINAL							X

7. PRESUPUESTO

RUBRO	TOTAL
MATERIAL DE ESCRITORIO	15,00 USD
IMPRESIONES Y COPIAS	100,00 USD
MATERIAL DE LABORATORIO:	
➤ Tubos para extracción (100).	20,00 USD
➤ Agujas vacutainer (100).	15,00 USD
➤ Caja de guantes (3 cajas).	45,00 USD
REACTIVOS:	
➤ Kit de reactivos para determinación de Ig A.	807,97 USD
➤ Reactivo de Benedict para determinación de Azucres Reductores.	37,00 USD
TRANSPORTE	100,00 USD
IMPREVISTOS	100,00 USD
TOTAL	1239,97 USD

9. BIBLIOGRAFÍA

- Alliende, F. (2007). intolerancia a la Lactosa y otros disacaridos. CURSO DE AVANCES EN GASTROENTEROLOGÍA, 18(2), 152–156. Recuperado de: www.soniped.org/articulos/FCKeditor/UserFiles/File/intocongenita lactosa.pdf
- Anderson, A. (15 de 06 de 2012). MANUAL DE LABORATORIO. Recuperado el 19 de 07 de 2016, de Hospital Dr. Hernán Henríquez Aravena de Temuco: <http://www.hhha.cl/MANUAL%20DE%20LABORATORIO%20HHHA%202012.pdf>
- Arroyo, M., y Alcedo, J. (03 de 2004). Intolerancia a la lactosa: diagnóstico y tratamiento. Recuperado el 28 de 06 de 2016, de JANO: <http://www.jano.es/ficheros/sumarios/1/66/1512/46/1v66n1512a13059180pdf001.pdf>
- Beneanula, D. (2010). Determinación de inmunoglobulina a en suero sanguíneo por los métodos de inmunodifusión radial y elisa cuantitativo indirecto en niños de edad escolar. UNIVERSIDAD DE CUENCA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA, 65–80. Recuperado de: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2462/1/tq1003.pdf>
- Castillo,k. y Fereño, R. (2011). INTOLERANCIA A LOS AZÚCARES EN MUESTRAS DIARREICAS DE MENORES DE UN AÑO. Recuperado el 30 de 05 de 2016, de: FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS: dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3821
- Ecuador, M. d. (2015). Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Recuperado el 30 de 05 de 2016, de Ministerio de Salud Publica del Ecuador: <http://www.salud.gob.ec/direccion-nacional-de-vigilancia-epidemiologica/>
- Fallis, A. (2013). Identificación y Cuantificación de Azúcares. Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Gavilanes , S., Manjarrez , Á., y Cravioto, A. (2002). Inmunoprotección por leche humana. Revista Mexicana de Pediatría , 69, 10 p. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/pediat/sp-2002/sp023h.pdf>
- Gervilla , J. (2011). ALERGIAS E INTOLERANCIA A LOS ALIMENTOS, 18(9), 560. [http://doi.org/10.1016/S1134-2072\(11\)70220-1](http://doi.org/10.1016/S1134-2072(11)70220-1)
- Hernández, D., García, E. , Vega, H., y Lazo, S. (2013). Revista Habanera de Ciencias Médicas. Estado inmunológico en niños con diarrea crónica inespecífica, vol. 12, núm. 3 , 354-363: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2014000600008
- Izquierdo, I. (junio de 2011). Situación actual de la intolerancia a la lactosa en la infancia. Recuperado el 2016 de 05 de 31, de Unidad de Gastroenterología y Nutrición Infantil. Hospital Infanta Elena. Valdemoro, Madrid. España.: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322011000200010

Kelley, W. (1992). Medicina Interna de Kelley. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.

Ojeda, M. (2011). Intolerancia a la lactosa en niños menores de un año. Recuperado el 30 de 06 de 2016, de UNIVERSIDAD CATOLICA DE CUENCA /UNIDAD ACADÉMICA DE INGENIERÍA QUÍMICA, INDUSTRIAL, ALIMENTOS: <http://dspace.ucacue.edu.ec/bitstream/reducacue/5226/4/Intolerancia%20a%20la%20lactosa%20en%20ni%C3%B1os%20menores%20de%20un%20a%C3%B1o.pdf>

Organización Mundial de la Salud. (1991). Recuperado el 01 de 06 de 2016, de Manejo del paciente con diarrea. Programa de control de enfermedades diarreicas.: <https://www.google.com.ec/webhp?sourceid=chrome-instant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=organizacion+mundial+de+la+salud+diarreas>

Moreira, V. (2006). Intolerancia a La Lactosa En Pediatría. Revista Española de Enfermedades Digestivas, 98, 2006.

Moreano, M. (2015). DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES Y SU RELACIÓN CON CARBOHIDRATOS NO ABSORBIDOS EN NIÑOS DEL CENTRO DE EDUCACIÓN INICIAL “MARÍA MOTESORI,” Retrieved from [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9981/1/Canseco Villota, Carmen Jacqueline.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/9981/1/Canseco%20Villota,%20Carmen%20Jacqueline.pdf)

Lukashok ,H. (2010). PREVALENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA EN PACIENTES QUE ACUDEN A UN CENTRO DE REFERENCIA EN GASTROENTEROLOGÍA . Recuperado el 01 de 06 de 2016, de Congreso Panamericano de Gastroenterología. Guayaquil, Ecuador.: <http://www.ieced.com.ec/investigacion-y-publicaciones>

Paredes, J. (02 de 2011). TESIS/UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA. Recuperado el 24 de 05 de 2016, de INTOLERANCIA A LA LACTOSA EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS DE EDAD: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/6573>

Reginald, M .(2007). Inmunología basada en la resolucion de problemas. Madrid: ELSEVIER ESPAÑA S.A.

Rott, C. (02 de 2010). INTOLERANCIA A LA LACTOSA EN PEDIATRÍA . Recuperado el 13 de 06 de 2016, de Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina.: http://med.unne.edu.ar/revista/revista198/4_198.pdf

Sanches, B. (1998). Deficiencia de Ig A. Recuperado el 30 de 06 de 2016, de Journal de Pediatría: <http://www.jpmed.com.br/conteudo/98-74-06-433/port.pdf>

Sanchez, V. (27 de 11 de 2007). Las enzimas y el aparato digestivo. Recuperado el 15 de

06 de 2016, de SALUD VIDA:
<http://www.sld.cu/saludvida/asisomos/temas.php?idv=17362>

Terrés, U. (11 de 04 de 2002). Enfermedad diarreica e intolerancia a la lactosa en Mexico. Recuperado el 28 de 05 de 2016, de MEDIAGRAPHIC:
http://www.hablemosclaro.org/Repositorio/biblioteca/b_184_Enfermedad_diarreica_e_intolerancia_a_la_lactosa.pdf

Tobergte, D., y Curtis, S. (2013). INMUNOLOGÍA. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Tocoian, A. (2006). PATRÓN GENÉTICO DE LA HIPOLACTASIA DE TIPO ADULTO EN LOS NIÑOS Y ADOLESCENTES DE GALICIA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. Retrieved from https://dspace.usc.es/bitstream/10347/2264/1/9788497508186_content.pdf

Vitoria, J. (06 de 1999). Intolerancia a la lactosa. Recuperado el 28 de 06 de 2016, de Hospital Infantil de Cruces. Universidad del país Vasco/Revisiones Tematicas:
<http://www.svnp.es/sites/default/files/33-1-18.pdf>

Usme, P. (2013). Microencapsulación de la lactasa como estrategia para mejorar la estabilidad y la aplicación en la industria de alimentos. Corporación Universitaria Lasallista Facultad de Ingeniería Especialización En Alimentación Y Nutrición Caldas, Antioquia, 36. Recuperado de http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/973/1/MICROENCAPSULACION_LACTASA ESTRATEGIA INDUSTRIA DE ALIMENTOS.pdf

Zieve, D. (2014). DEFICIENCIA SELECTIVA DE IgA . Recuperado el 31 de 05 de 2016, de MEDLINEPLUS:
<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/001476.htm>

10. ANEXOS

ANEXO 1

OFICIO

Loja, septiembre del 2016.

Dr.

Ernesto Granda Marin.

DIRECTOR DEL CENTRO DE SALUD NO 1 DE LOJA

Ciudad.-

De mis consideraciones:

Yo, **DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO**, con **C.I.1104746449** estudiante del VII ciclo de la Carrera de Laboratorio Clínico del ASH de la UNL, solicito de la manera más comedida se digne autorizar la realización de mi proyecto titulado: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA.** Para el desarrollo del mismo requiero realizar la toma de muestras sanguíneas y recepción de muestras de heces de los pacientes pediátricos atendidos en esta institución.

Esperando ser atendida favorablemente, le antelo mi sincero agradecimiento.

Atentamente,

.....
DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO.
C.I.....

ANEXO 2

OFICIO

Loja, septiembre del 2016.

Ing.

Byron Guerrero.

DIRECTOR DEL HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYORA DE LA CIUDAD DE LOJA.

Ciudad.-

De mis consideraciones:

Yo, **DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO**, con **C.I.1104746449** estudiante del VII ciclo de la Carrera de Laboratorio Clínico del ASH de la UNL, solicito de la manera más comedida se digne autorizar la realización de mi proyecto titulado: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA.** Para el desarrollo del mismo requiero realizar el procesamiento sanguíneas y de heces de los pacientes pediátricos atendidos en el Centro de Salud No 1.

Esperando ser atendida favorablemente, le antelo mi sincero agradecimiento.

Atentamente,

.....
DANIELA JOHANNA ALVARADO JARAMILLO.
C.I.....

ANEXO 3

**HOJA DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPACIÓN EN ESTUDIO
DE INVESTIGACIÓN**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Señor padre de familia del:

Niño/a.....

Con la finalidad de realizar la investigación: **RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA EN EL PERIODO SEPTIEMBRE 2016 – FEBRERO 2017**, me permito solicitar su autorización, a fin de recolectar una muestra de heces y una muestra sanguínea de su hijo, la cual permitirá realizar los exámenes pertinentes para contribuir al diagnóstico temprano de intolerancia a la lactosa y prevenir afecciones futuras.

Por lo que reitero mi pedido para contar con su valioso consentimiento para proceder a la recepción antes citada.

Firma del padre de familia del participante.....

C.I.....

Fecha.....

ANEXO 4

ENCUESTA



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

TEMA: RELACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA Y LOS NIVELES SERICOS DE IG A EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD No 1 DE LOJA.

DATOS INFORMATIVOS:

Encuesta N°.....

NOMBRE DEL ENCUESTADO/A:.....

SEXO: EDAD:

INSTRUCCIONES:

- ❖ Muy comedidamente le solicito contestar las siguientes preguntas.
- ❖ Las respuestas emitidas son privadas. Es muy importante que conteste a cada pregunta con la verdad.
- ❖ Las respuestas ofrecerán una información muy valiosa para la realización del presente estudio investigativo.

1. ¿EN ESTOS DOS ULTIMOS AÑOS SE HA PRESENTADO EN SU NIÑO/A ALGUNA DE LAS SIGUIENTES CONSIDERACIONES?

- ❖ Su periodo de lactancia fue menor a seis meses.
- ❖ Presento Infecciones intestinales recurrentes.
- ❖ Se ha incrementado el consumo de antibióticos para tratar estas infecciones.

2. ¿SU NIÑO/A HA PRESENTADO ALGUNA DE LAS SIGUIENTES MANIFESTACIONES EN LOS ÚLTIMOS SEIS MESES?

❖ Diarreas frecuentes.

❖ Gases.

❖ Alergias alimentarias.

3. ¿CONOCE USTED SI EXISTEN CASOS DE INTOLERANCIA A LA LACTOSA EN SU ENTORNO FAMILIAR?

❖ SI

❖ NO

4. ¿SU NIÑO/A HA SIDO DIAGNOSTICADO CON INTOLERANCIA A LA LACTOSA?

❖ SI

❖ NO

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

ANEXO 6

PROTOCOLO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA DE HECES

Obtención de la muestra

Para la obtención de la muestra se el paciente deberá seguir las siguientes indicaciones:

- ❖ Obtener la muestra por eliminación espontánea.
- ❖ Depositar la muestra en un frasco limpio.
- ❖ La cantidad mínima requerida es ½ cucharadita de té.
- ❖ Recolección de muestra de deposición de pañal.
- ❖ Sacar con la espátula de madera, la desposición más superficial y abundante que contenga el pañal.
- ❖ Se debe obtener la muestra, ojalá recién emitida, para evitar que ésta sea absorbida por el pañal.
- ❖ Sacar mínimo 1/3 de la espátula y depositarla en frasco de boca ancha.

Transporte y Conservación:

- ❖ La muestra debe ser trasladada al Laboratorio, antes de dos horas de su obtención o ser conservada a 4°C.

Las muestras que serán rechazadas serán por las siguientes razones:

- ❖ Muestras sin rotular o sin identificación.
- ❖ Muestras contaminadas con orina.
- ❖ Muestras que se han demorado más del rango de tiempo establecido
- ❖ Muestras que evidencien que hayan sido derramadas.
- ❖ Cantidad inadecuada.

(Anderson, 2012)

ANEXO 7

PROTOCOLO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA SANGUÍNEA

LA PREPARACIÓN DEL PACIENTE:

- ❖ Hable con el padre del paciente. Explique el procedimiento a seguir.
- ❖ Explicar al padre de familia en general los exámenes de sangre se toman en ayunas, pues la ingesta de alimentos puede hacer variar los resultados de algunos exámenes
- ❖ La primera impresión y las observaciones inmediatas pueden ser útiles en la recolección de la muestra.
- ❖ Establecer el sitio de la punción, las precauciones necesarias y la forma correcta para el trato del paciente pediátrico.
- ❖ La comunicación afectiva es determinante en la relación con el paciente pediátrico.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- ❖ Reúna el material y llévelo a la unidad del paciente
- ❖ Explique el procedimiento al paciente si éste está consciente con lenguaje claro.
- ❖ Lávese las manos y colóquese guantes de procedimientos.
- ❖ Acomode al paciente, coloque la extremidad elegida sobre superficie plana acojinando la articulación, permitiendo una punción certera.
- ❖ Coloque el torniquete, permitiendo que la vena se palpe o se vea con más facilidad.
- ❖ Realizar la desinfección de la zona a puncionar con alcohol 70%.
- ❖ Fije la vena con ayuda de una de sus manos. Solicite al padre del paciente su colaboración para sujetar al niño a fin de evitar error en la punción.
- ❖ Inserte la aguja con el bisel hacia arriba, puncione la vena y observe el reflujo de sangre.
- ❖ Mantenga fija la aguja durante la extracción.
- ❖ Realice presión sobre el sitio de punción con torunda de alcohol y selle con tela o hansaplast.

- ❖ Obtener muestra con proporción adecuada y evitar que muestra se coagule.
- ❖ Rotule los tubos con nombre y código del paciente. Evitar errores de identificación de muestras. Retírese guantes, lávese las manos, retire el material y registre en hoja de datos del paciente.

TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

- ❖ Una vez que se haya colectado la muestra sanguínea, ésta debe ser llevada pronto al laboratorio para su procesamiento. Algunas pruebas exigen que el suero sea separado cuanto antes del coágulo sanguíneo, para evitar alteraciones en la composición o niveles de algunos metabolitos. De más está decir que la muestra debe ser acompañada por su correspondiente formulario de solicitud de examen.
(Anderson, 2012)

ANEXO 8

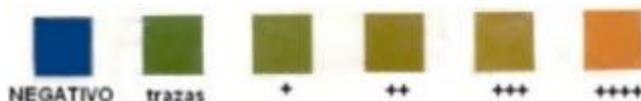
INSERTO DE LA TECNICA PARA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES

Método

12. Se realiza la toma de heces, se suspende en agua destilada. La muestra deberá de ser fresca y deberá analizarse dentro de una hora después de su recolección.
13. Numerar los tubos de ensayo.
14. Se mezcla bien y se coloca las dos fracciones del reactivo en un tubo de ensayo, (Fracción A y Fracción B) junto con 15 gotitas de la muestra suspendida.
15. Calentar con el mechero durante 1 min y observar si se produce algún cambio. Si existen cuerpos reductores, la suspensión cambiara de color debido a la reacción. (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).

Valores de referencia

- Si el color de la prueba de azul transparente no precipita es negativo.
- Si el color de la prueba cambia a un color: verde no precipitado, verde precipitado, amarillo, verde oliva, castaño, marrón, naranja o rojo ladrillo, el resultado será positivo (De Jaime & De Jaime, 2011; Díaz, Jorrín, & Bárcen, 2003).



ANEXO 9

INSERTO DE LA TECNICA PARA DETERMINACIÓN NIVELES SERICOS DE IG A EN SUERO SANGUINEO.

0003507343190501V10.0

IGA-2

Tina-quant IgA Gen.2

Información de pedido

REF	CONTENT	Analizadores adecuados para el cobas c pack
03507343 190	Tina-quant IgA Gen.2 150 pruebas	ID del sistema 07 6786 7 Roche/Hitachi cobas c 311 , cobas c 501/502
11355279 216	Calibrator f.a.s. Proteins (5 x 1 mL)	Código 656
11355279 160	Calibrator f.a.s. Proteins (5 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 656
10557897 122	Precinorm Protein (3 x 1 mL)	Código 302
10557897 160	Precinorm Protein (3 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 302
11333127 122	Precipath Protein (3 x 1 mL)	Código 303
11333127 160	Precipath Protein (3 x 1 mL, para los EE.UU.)	Código 303
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	Código 300
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	Código 300
03121291 122	Precipath PUC (4 x 3 mL)	Código 241
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Código 391
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Código 391
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, para los EE.UU.)	Código 391
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Código 392
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Código 392
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, para los EE.UU.)	Código 392
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	ID del sistema 07 6869 3

cobas[®]

Español

Información del sistema

Analizadores **cobas c 311/501**:

IGA-2: ACN 458 (aplicación estándar)

IGAP2: ACN 295 (Aplicación sensible)

Analizadores **cobas c 502**:

IGA-2: ACN 8458 (aplicación estándar)

IGAP2: ACN 8295 (Aplicación sensible)

Uso previsto

Test in vitro para la determinación cuantitativa de IgA en suero y plasma humanos en los sistemas Roche/Hitachi **cobas c**.

Características^{1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12}

La IgA constituye el 13 % de las inmunoglobulinas plasmáticas y protege la piel y las mucosas de microorganismos. Por su capacidad para fijar toxinas y en combinación con la lisozima, desarrolla propiedades antibacterianas y antiviricas. Es la inmunoglobulina que predomina en secreciones corporales tales como el calostro, la saliva y el sudor. La IgA secretada sirve de defensa contra infecciones locales y juega un papel importante en la fijación de antígenos provenientes de alimentos en el intestino. En el suero, la IgA se halla en forma de monómero, dímero o trímero, mientras que en las secreciones del organismo está presente exclusivamente como dímero con una cadena adicional (componente de la secreción).

Concentraciones elevadas de IgA policlinal se observan en hepatopatías crónicas, infecciones crónicas, enfermedades autoinmunes (artritis reumatoidea, lupus eritematoso sistémico), en la sarcoidosis y el síndrome de Wiscott-Aldrich. La concentración de IgA monoclonal aumenta en los mielomas de IgA.

La síntesis de IgA se reduce con enfermedades de inmunodeficiencia congénita y adquirida como lo es la agammaglobulinemia (enfermedad de Brutón). Las concentraciones de IgA disminuyen en gastroenteropatías con pérdida de proteínas y por quemaduras con pérdida de piel.

Debido a que la síntesis de la IgA se inicia tardíamente, su concentración en el suero de niños es inferior a la de los adultos.

El empleo de anticuerpos específicos para determinar las proteínas séricas se ha convertido en un importante instrumento diagnóstico. Fueron Pope y Healey quienes observaron por primera vez en 1938 la capacidad de los complejos antígeno-anticuerpo para dispersar la luz, lo cual fue confirmado más tarde por Gitlin y Edelhoch. Ritchie empleó la turbidimetría para la determinación cuantitativa de proteínas, la cual también puede efectuarse por el método nefelométrico. El incremento de la polimerización al añadir polietilenglicol (PEG) para mejorar la sensibilidad del test y acelerar la

formación del complejo antígeno-anticuerpo fue documentada por Lizana y Helsing.

La prueba de IgA de Roche se basa en el principio de aglutinación inmunológica.

Adicionalmente a la aplicación estándar (test IGA-2), se ofrece una aplicación sensible (test IGAP2) concebida para la determinación cuantitativa de bajas concentraciones de IgA, p. ej. en muestras pediátricas.

Las así denominadas paraproteínas secretadas en gammopatías monoclonales (inmunoglobulinemia monoclonal) pueden diferir de las respectivas inmunoglobulinas de origen policlinal en tamaño y en la composición de sus aminoácidos. Esto puede perjudicar la fijación del anticuerpo y dificultar una cuantificación precisa.

Principio del test

Prueba inmunoturbidimétrica

Los anticuerpos anti-IgA reaccionan con el antígeno de la muestra para formar un complejo antígeno-anticuerpo. La aglutinación resultante se mide turbidimétricamente. Al añadir PEG, la reacción avanza rápidamente hacia el punto final, incrementándose así la sensibilidad de la prueba y reduciéndose simultáneamente el riesgo de obtener resultados falsos negativos por muestras que contienen un exceso de antígeno.

Reactivos - Soluciones de trabajo

R1 Tampón TRIS: 20 mmol/L, pH 8.0; NaCl: 200 mmol/L; polietilenglicol: 3.6 %; conservante; estabilizadores

R2 Anticuerpo anti-IgA humana (cabra), dependiente del título; tampón TRIS: 20 mmol/L, pH 8.0; NaCl: 150 mmol/L; conservante

R1 está en la posición B y R2 en la posición C.

Medidas de precaución y advertencias

Sólo para el uso diagnóstico in vitro.

Observe las medidas de precaución usuales para la manipulación de reactivos.

Elimine los residuos según las normas locales vigentes.

Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Para los EE.UU.: uso exclusivamente bajo prescripción.

El presente estuche contiene componentes que han sido clasificados por la directiva CE No. 1272/2008 de la siguiente manera:

ANEXO 10

HOJA DE REPORTE DE RESULTADOS



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
AREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

HOJA DE RESULTADOS

**NOMBRES DEL
PACIENTE.....**
EDAD.....
HISTORIA CLÍNICA.....
FECHA.....
TIPO DE MUESTRA.....
NÚMERO DE MUESTRA.....

❖ AZUCARES REDUCTORES (PRESENCIA DE LACTOSA):

RESULTADOS		INTERPRETACIÓN	
		SI	NO
COLOR DEL REACTIVO	NEGATIVO		
COLOR LADRILLO	POSITIVO		

❖ **PRESENCIA DE CONCENTRACIONES SERICAS DE IG A.**

RESULTADOS		
MUESTRA No	RESULTADO	VALORES DE REFERENCIA (pediátricos)
		0-1 año : 0.00 – 83 mg/dl 1-3 años: 20.0 – 100 mg/dl 4-6 años: 27.00 -195 mg/dl 7-9 años : 34.00 – 305 mg/dl 1-3 años: 20.0 – 100 mg/dl 4-6 años: 27.00 -195 mg/dl

.....

FIRMA DEL RESPONSABLE