

Determinación de inmunoglobulinas Ig G – Ig A – Ig M por el método de inmunodifusión radial, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo, Sucre 2008

CEJAS- Claudia†, CORTEZ- Leticia, RENTERIA- Rosa, SALAS- Norma, y SOLARES- Carolay

Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas,

Recibido 7 de Enero, 2014; Aceptado 10 de Julio, 2014

Resumen

Las inmunoglobulinas son la inmunidad humoral específica moleculasand su función fisiológica principal es la defensa contra los microorganismos y toxinas extracelulares producidas por diversos estudio agents.The microbiana de las clases principales de inmunoglobulinas A, G y M, específica o total es de particular interés en el laboratorio inmunoquímica moderna. Por lo tanto, la caracterización y cuantificación de estas inmunoglobulinas son los ensayos necesarios para el diagnóstico y seguimiento de deficiencias inmunes y otras enfermedades. Este proyecto tiene como objetivo determinar la concentración de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM). (GAM) en niños de 1-5 años asistió al Servicio de Pediatría del Hospital de Clínicas de la ciudad de Santa Bárbara de Sucre, en los meses de abril y mayo de 2008. El estudio, de diseño observacional descriptivo. Para ello, 45 niños seleccionados al azar de una población de 257, a los que asistieron el seguro de salud materno. (SUMI). Se recogieron datos sobre edad, sexo y tiempo de residencia en la (interna y externa) en el hospital formulario de registro del paciente. Concentración GAM fue evaluada por inmunodifusientechnique radial. Se observó que las concentraciones de la inmunoglobulina estudiado (GAM) variaron por edad. Sexo influye en las concentraciones de IgM, inmunoglobulinas (G, A, M) tienen concentraciones más altas en pacientes ambulatorios. El modo indica que los valores de IgM, IgG, son normales, pero no la IgA que es baja en la mayoría de los niños.

Inmunoglobulinas, Inmunodifusión Radial, Niños.

Citación: CEJAS Claudia, CORTEZ Leticia, RENTERIA Rosa, SALAS Norma, y SOLARES Carolay, Determinación de inmunoglobulinas Ig G – Ig A – Ig M por el método de inmunodifusión radial, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo, Sucre 2008. Revista de Sistemas Experimentales 2014, 1-1:29-36

Abstract

Immunoglobulins are specific humoral immunity moleculasand its main physiological function is defense against extracellular microorganisms and toxins produced by various microbial agents.The study of the major classes of immunoglobulins A, G and M , specific or total is of particular interest in modern immunochemical laboratory. Thus, the characterization and quantification of these immunoglobulins are tests needed for the diagnosis and monitoring of immune deficiencies and other diseases. This project aims to determine the concentration of immunoglobulins (IgG , IgA, IgM) . (GAM) in children aged 1-5 years attended the Pediatric Service of the Hospital de Clinicas Santa Barbara city of Sucre, in the months of April and May of 2008 . The study adopted a descriptive observational design. For this, 45 children randomly selected from a population of 257, which were attended by the Maternal Health Insurance . (SUMI) . Data on age, sex and residence time in the (internal and external) were collected in hospital Patient Registration Form . GAM concentration was assessed by radial immunodifusientechnique. It was observed that the concentrations of the studied immunoglobulin (GAM) varied by age . Sex influences the concentrations of IgM, immunoglobulins (G , A, M) have higher concentrations in outpatients. The mode indicates that the values of IgM ,IgG , are normal , but not the IgA which is low in most children.

Immunoglobulins, Radial Immunodiffusion, Children.

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Las inmunoglobulinas son proteínas altamente específicas que son producidas en respuesta a antígenos específicos, se encuentran en el suero y otros humores y tejidos del cuerpo. Son moléculas de la inmunidad humoral específica y una de sus principales funciones fisiológicas es la defensa contra los microorganismos extracelulares y las toxinas producidas por los distintos agentes microbianos. (3)

La determinación de estas inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM, (GAM) contribuye significativamente al diagnóstico de diversas enfermedades por inmunodeficiencias, gammapatías monoclonales y enfermedades infecciosas crónicas y agudas entre otras. Sus cifras séricas dependen de diversos factores del desarrollo, genéticos y ambientales. Éstos incluyen: características étnicas, edad, sexo, antecedentes de alergia, o infecciones recidivantes y factores geográficos. (4)

La inmunoglobulina A (IgA) es la responsable de la respuesta inmunitaria humoral de las mucosas, por tanto constituye la primera línea de defensa específica para la mayoría de las infecciones. (2)

La inmunoglobulina G (IgG) es la clase más abundante en suero (8-16 mg/mL), constituyendo el 80% de las inmunoglobulina totales. Es el anticuerpo más abundante durante la respuesta inmunitaria secundaria de tipo humoral.

Es la única clase de inmunoglobulina que puede atravesar la barrera placentaria y es la responsable, mediante esta inmunidad pasiva natural, de proteger a los recién nacidos durante los primeros meses de vida. (13)

La inmunoglobulina M (IgM) supone del 5 al 10% de las inmunoglobulinas séricas (1.5 mg/mL en promedio), predominan en la respuesta inmunitaria temprana a la mayor parte de los antígenos aunque tiende a hacerse menos abundante subsecuentemente.

Por todo lo expuesto surge el siguiente problema *de* investigación:

¿Cuál será la concentración de las inmunoglobulinas totales Ig G, Ig A, Ig M (GAM) en niños de 6 meses a 5 años atendidos en el hospital Santa Bárbara durante los meses de abril y mayo del 2008?

Siendo el objetivo general:

Determinar la concentración de inmunoglobulinas totales Ig G, Ig A, Ig M, (GAM) en niños de 6 meses a 5 años, atendidos en el Hospital Santa Bárbara en los meses de abril y mayo del 2008.

Y los siguientes objetivos específicos:

- Relacionar la concentración de inmunoglobulinas totales (G, A, M) según grupos etarios.
- Verificar la influencia del sexo en las concentraciones de las inmunoglobulinas.
- Comparar según tipo de paciente (interno, externo) las concentraciones de inmunoglobulinas.

Bolivia es un país tercer mundista que presenta un alto índice de pobreza y analfabetismo por lo que su población no puede acceder con facilidad a atención médica y condena a su salud al último lugar de la escala de prioridades.

A pesar de los programas de salud implementados la población boliviana por sus características de vida, presenta un gran riesgo de contraer diferentes enfermedades.

Tomando en cuenta los altos datos de mortalidad infantil en nuestro país es importante pensar en mejorar la salud de los niños, y lograr que su defensa inmunológica sea suficiente para que pueda recuperarse de las enfermedades que contraiga, sin duda alguna, una buena opción es estudiarla.

De acuerdo a estudios realizados se estima que un 5 % al 10 % de los pacientes que ingresan a un hospital adquieren una infección que no estaba presente, o incubándose, en el momento de su llegada al centro, y tomando en cuenta este dato, el hecho de valorar las inmunoglobulinas en los niños permitirá tener un parámetro para impulsar más estudios acerca de la inmunidad y tener mayor cuidado en la atención y los tratamientos aplicados a estos niños. (5)

Se espera que este estudio sea tomado como punto de partida para futuros estudios sobre el tema y también como parámetro para establecer estudios relacionados con los valores de referencia de las concentraciones de inmunoglobulinas propias de esta región y observar los cambios que pueden sufrir estas concentraciones con respecto a factores característicos de la misma.

Materiales y métodos

Toma de muestra

La muestra sanguínea se obtuvo por punción venosa, esta fue procesada para la extracción del suero de la siguiente manera:

Retracción del coagulo en baño maría a 37 °C.

Centrifugación a 3500 rpm por 5 minutos. (15)

Técnica de inmunodifusión radial en placa

Principio del método

El procedimiento consiste en una inmunoprecipitación en agarosa entre un antígeno a cuantificar y su anticuerpo homólogo. 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 pocillos cavados en el gel. El antígeno difunde radialmente en la mezcla gel-anticuerpo y se forma un disco o anillo visible en un punto que depende de la relación estequiometría antígeno-anticuerpo. A medida que más antígeno difunde, el anillo se re disuelve y reaparece a una distancia mayor del pocillo. Este aumento en el diámetro de precipitación continúa hasta que antígeno y anticuerpo reaccionan completamente.

Mientras que el precipitado se está expandiendo (16 a 20 horas) la relación entre el diámetro del anillo y el logaritmo de la concentración de antígeno es aproximadamente lineal. Al completarse la reacción, la relación entre el diámetro al cuadrado y la concentración es lineal.

El sistema permite el desarrollo de 3 métodos para el análisis de los resultados ya sea en:

- A- Determinaciones de rutina.
- B- Determinaciones de alta precisión.
- C- Determinaciones de rápida orientación.

Equipamiento necesario para el desarrollo de la técnica

- 1- Placa para 12 determinaciones.
- 2- Micro pipetas o capilares que permitan medir 5 µl con precisión.
- 3- Sueros testigos con 1 y/o 3 niveles de la proteína a determinar.
- 4- Regla de lectura que permita leer con una precisión de 0,1 mm.
- 5- Tabla de conversión diámetro vs. Concentración (uso opcional). (16)

Procedimiento

Preparación del material

- Se utilizó un suero control de concentración conocida y una dilución 1/2 con solución fisiológica
- Las muestras de suero fueron procesadas en el día.

Procedimiento

- Se abrió la placa para permitir que se evapore el exceso de humedad.
- Se sembró 5 µl de muestra y control utilizando micro pipetas de precisión se colocó en el centro de la placa algodón humedecido, para mantener la humedad del agar.
- Se procedió a incubar en posición invertida en cámara húmeda durante 48 horas, a temperatura ambiente

Resultados y discusión

Edades	6 m-<3 a		3-5 a	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	2	6	2	15
Alto	22	69	9	69
Normal	8	25	2	15
Totales	32	100	13	100

Tabla 1 Concentración de Ig M por el método de IDR según grupos etáreos, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y mayo 2008

El 69% de los niños de 6 meses a > 3 años y 3 a 5 años presentan valores altos de concentración de IgM siendo este el porcentaje más alto. Solo el 25 % de los niños de 6 meses a > 3 años tienen valores normales y el 6% bajos; el 15% de 3 a 5 años presentan valores bajos y el mismo porcentaje normales.

Edades	6 m-<3 a		3-5 a	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	8	25	1	8
Alto	2	6	0	0
Normal	22	69	12	92
Totales	32	100	13	100

Tabla 2 Concentración de Ig A por el método de IDR según grupos etáreos, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara, Abril y Mayo 2008

El 69% de los niños entre 6 meses a <3 años de edad y el 92% de los niños entre 3-5 años presentan valores normales. El 25% de niños entre 6 meses a <3 años y el 8 % de los de 3-5 años presentan valores bajos; solo el 6 % de los de 6 meses a <3 años de edad tienen valores altos.

Edades	6 m-<3 a		3-5 a	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	0	0	0	0
Alto	6	19	2	15
Normal	26	81	11	85
Totales	32	100	13	100

Tabla 3 Concentración de IgG por el método de IDR según grupos etáreos, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

La mayoría de la población (81% de los niños entre 6 meses a < 3 años y 85% de los niños entre 3-5 años) presenta concentraciones normales de IgG.

Sexo	Femenino		Masculino	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	2	9	2	9
Alto	18	78	1	5
Normal	3	13	19	86
Totales	23	100	22	100

Tabla 4 Concentración IgM por el método de IDR según sexo, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

El 78 % de las niñas presentan valores elevados de IgM, frente al 5% de los niños. El 86% de los niños frente a solo el 13% de las niñas presentan valores normales.

Sexo	Femenino		Masculino	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	5	22	4	18
Alto	1	4	1	5
Normal	17	74	17	77
Totales	23	100	22	100

Tabla 5 Concentración de Ig A por el método de IDR según sexo, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

Sexo	Femenino		Masculino	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	0	0	0	0
Alto	3	13	5	23
Normal	20	87	17	77
Totales	23	100	22	100

Tabla 6 Concentración de Ig G por el método de IDR según sexo, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

La mayoría de la población del estudio (87% = niñas y el 77%= niños) presentan valores de Ig G normales El 23% de los niños y el 13% de las niñas presentan valores altos.

Paciente	Interno		Externo	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	1	6	3	10
Alto	11	69	6	21
Normal	4	25	20	69
Totales	16	100	29	100

Tabla 7 Concentración de Ig M por el método de IDR según tipo de paciente (interno, externo) en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

El 69% de los niños internados presenta altas concentraciones de Ig M, mientras que los niños que no están internados (externos) la mayoría presentan concentraciones normales de IgM.

Paciente	Interno		Externo	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	2	13	7	24
Alto	0	0	2	7
Normal	14	88	20	69
Totales	16	100	29	100

Tabla 8 Concentración de Ig A por el método de IDR según tipo de paciente, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

La mayoría de los niños, tanto externos como internos, presentan valores normales de IgA, (88% y 69%), sin embargo el 24% de los externos y el 13% de los internados presentan bajas concentraciones. El 7% de lo externos presenta valores elevados.

Paciente	Interno		Externo	
	Nº	%	Nº	%
Bajo	0	0	0	0
Alto	0	0	9	31
Normal	16	100	20	69
Totales	16	100	29	100

Tabla 9 Concentración de Ig G por el método de IDR según tipo de paciente, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

El 100% de los niños Internados y el 69% de los niños externos presentan valores normales de Ig G; y el 31% de los externos presentan valores altos.

Tipo de Ig	IgM		IgA		IgG	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Bajo	4	9	9	20	0	0
Alto	19	42	2	4	8	18
Normal	22	49	34	76	37	82
Totales	45	100	45	100	45	100

Tabla 10 Concentración de Inmunoglobulinas totales por el método de IDR, en niños de 6 meses a 5 años Hospital de clínicas Santa Bárbara. Abril y Mayo 2008

Los valores son normales en todos los tipos de inmunoglobulinas (G, A, M), bajos en el 20 % de la Ig A y altos en el 42 % de la Ig M

Discusión

En el presente trabajo se observó una disminución de IgG, IgA e IgM en el grupo total de pacientes estudiados, pero en bajo porcentaje. Esto puede deberse a una inmunodeficiencia primaria, que si se comprobara en futuros estudios en esta población, podría ser considerada como un factor de riesgo para diversas patologías, más aun si tomamos en cuenta que la población estudiada corresponde a individuos cuyos niveles de nutrición no son los más adecuados (características propias de la población infantil que acude al Hospital Santa Bárbara).

Las concentraciones de las tres inmunoglobulinas estudiadas varían de acuerdo a la edad, coincidiendo con lo descrito en la bibliografía.

El 69% de los niños en ambos grupos etareos presentan valores de Inmunoglobulina IgM por encima de lo normal, concordante con el estado inmunológico del paciente, ya que todos los niños estudiados acudieron al hospital a causa de alguna patología, en su mayoría en proceso agudo (IRAs, EDAs.)

Aunque no existe en la bibliografía un dato de variación por el sexo, el presente estudio demostró que en el caso de la IgM se observan diferencias entre ambos sexos (el 78 % del sexo femenino y 5 % del sexo masculino presentan valores altos) aunque la muestra no resulte ser totalmente representativa. Esto se tendría que verificar ampliando el estudio a una mayor población y relacionando con otras variables controladas como peso, talla, enfermedad de fondo, etc. Las inmunoglobulinas G y A presentan valores indiferentes al sexo.

En cuanto a la inmunoglobulina A el 22% del sexo femenino y el 18% del sexo masculino presentan valores bajos, que pueden darse en afecciones típicas de los niños como neumonías, alteraciones respiratorias, propias de la población infantil que acude al hospital Santa Bárbara, donde dichas infecciones respiratorias (IRAs) son las más prevalentes.

La variable tipo de paciente (interno o externo) constituye en la presente investigación, un factor de riesgo que incide en la concentración de las inmunoglobulinas, ya que los pacientes internados presentan valores más altos de IgM, que los pacientes externos, probablemente porque están más expuestos a desarrollar una infección intrahospitalaria, además de la enfermedad de ingreso u hospitalización.

Conclusiones

La moda calculada de la concentración de cada inmunoglobulina es IgM 180 mg/dl, IgA 10 mg/dl, IgG 1075 mg/dl, lo que indica que los valores de IgM, IgG, son normales en la mayoría de los niños.

La media de cada inmunoglobulina es IgM 141 mg/dl, IgA 82 mg/dl, IgG 1450 mg/dl, valores que se encuentran dentro de los parámetros establecidos.

La mediana calculada de cada tipo de inmunoglobulina es IgM 180 mg/dl, IgA 70 mg/dl, IgG 1075 mg/dl.

En el presente estudio corroboramos que las concentraciones de las inmunoglobulinas estudiadas (G, A, M) varían de acuerdo a la edad

En este estudio se evidenció que el sexo no varía la concentración de las inmunoglobulinas a excepción de la Ig M.

Se comprobó que todas las inmunoglobulinas estudiadas presentan mayores concentraciones en pacientes externos frente a los internos con excepción de las Ig M

Agradecimientos

Los investigadores agradecen a la Dirección de Investigación Ciencia y Tecnología (DICYT) de la Universidad San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo.

Referencias

Barrera Alonso, I. AEC. Oscar Otero Alfaro y Ahílen Díaz Estévez. Inmunoglobulinas y

proteínas de fase aguda en niños atletas de alto rendimiento. Ed.

Bayle y Scott (2002) Diagnostico Microbiológico. Buenos aires. Ed. Panamericana.

Bladés de la Barra Nelly (2005) Bacteriología Clínica Básica. Sucre. Ed. Tupac Katari.

Carlos J. Castro-Sansores, Renán A. Góngora-Biachi. Depto. de Hematología, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. HideyoNoguchi", Universidad Autónoma Carlos J. Castro-Sansores, Renán A. Góngora-Biachi. Depto. de Hematología, Centro de Investigaciones Regionales "Dr. HideyoNoguchi", Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán, México.

Chmielewski M, Hombach A, Heuser C, Adams GP, Abken H.(2004). T cell activation by antibody-like immunoreceptors: increase in affinity of the single-chain fragment domain above threshold does not increase T cell activation against antigen-positive target cells but decreases selectivity. J Immunol, 73: 7647-53.

Diccionario Medico. Bogota, Barcelona, Buenos Aires, Caracas, México, Quito.

Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgodieumsh.qfb.umich.mx/bioquimica/glosario.htm

Dr. Benítez Llanes Orestes,¹ Dr. Gómez Barry Hilario,² Dr. Castañer Moreno Juan ³ y Dr. Fuentes Abreu Jorge ⁴ Elementos de predicción pronóstica en la nefropatía primaria por inmunoglobulina A

Wikipedia la enciclopedia libre Artículo de anticuerpo e inmunoglobulinas. www.wikipedia.org/wiki/Inmunoglobulinas.

Galaktionov VG. (2004). Evolutionary development of the immunoglobulins super family. Izv Akad Nauk Ser Biol., (2): 133-45.

Hernández Sampieri Roberto, Fernández Collado Carlos, Baptista Lucio, Pilar (2003) Metodología de la investigación. Ed. McGraw-Hill Interamericana.

Hospital de Clínicas Santa Bárbara. Reglamento interno. (1999). Sucre.

Wikipedia la enciclopedia libre Artículo nefelometria <http://es.wikipedia.org/wiki/Nefelometria>

Biblioteca Nacional de Medicina de E.E.U.U e Institutos Nacionales de salud Medline Plus <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003545.htm>

INLASA. (2001) Manual de inmunología para laboratorios de nivel II. La Paz. Ed. Offset Boliviana.

Instructivo de DIFFU-PLATE, Biocientífica S.A. Industria argentina.

Lorca Jaime. Determinación de inmunoglobulinas M en 129 recién nacidos normales de Santiago.