



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES  
RESPIRATORIAS "ISMAEL COSÍO VILLEGAS"

**PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA  
POLISACÁRIDOS EN PACIENTES CON  
RINOSINUSITIS CRÓNICA , OTITIS MEDIA CRÓNICA Y NEUMONÍA  
RECURRENTE.**

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN:  
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y CIRUGÍA DE CABEZA Y  
CUELLO

PRESENTA:  
DR. ELIUD GRAJEDA ESQUIVEL

TUTOR:  
DRA. MARIA DE LA LUZ HORTENSIA GARCIA  
CRUZ

ASESORES:  
DR. MARCOS ALEJANDRO JIMENEZ CHOBILLON  
DR. ARMANDO ROBERTO CASTORENA  
MALDONADO



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**APROBADA POR**

DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA  
Director de Enseñanza

---

DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA  
Subdirectora de Enseñanza

---

DRA. MARÍA DEL CARMEN CANO SALAS  
Jefa de Departamento de Formación de Posgrado

---

DR. ARMANDO R. CASTORENA MALDONADO  
Profesor Titular de la Especialidad de Otorrinolaringología y Cirugía de  
Cabeza y Cuello

---

DRA. MARIA DE LA LUZ HORTENSIA GARCIA  
CRUZ  
Tutor de tesis  
Médico adscrito al Departamento de Otorrinolaringología y Cirugía de  
Cabeza y Cuello

---

DR. MARCOS ALEJANDRO JIMENEZ CHOBILLON  
Médico adscrito al Departamento de Otorrinolaringología y Cirugía de  
Cabeza y Cuello

---

## **COLABORADORES**

Dra. Sara Elba Espinosa Rosales. Jefe de la Unidad de Investigación de Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría.

QFB. Edgar Alejandro Medina Torres. Investigador en Ciencias Médicas A. Unidad de Investigación de Inmunodeficiencias, Instituto Nacional de Pediatría.

Dr. Claudia Garrido Galindo. Médico Adscrito al Servicio de Neumología Pediátrica.

Dra. Laura Graciela Gochicoa Rangel. Jefe del Departamento de Fisiología Respiratoria. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

**PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA  
POLISACÁRIDOS EN PACIENTES CON  
RINOSINUSITIS CRÓNICA , OTITIS MEDIA CRÓNICA Y NEUMONÍA  
RECURRENTE.**

**ÍNDICE**

<b>1. Introducción.....</b>	<b>5</b>
<b>2. Antecedentes.....</b>	<b>7</b>
2.1 Incidencia de Neumococo .....	7
2.2 Factores de Virulencia y Mecanismos de Acción.....	7
2.2.1 Capsula Polisacárido .....	9
2.2.2 Pared Celular .....	10
2.3 Proteínas involucradas en la patogénesis de Streptococo Pneumoniae.....	10
2.2.3.1. Neumolisina.....	10
2.2.3.2. Proteínas de superficie .....	11
2.2.3.3 Lipoproteínas .....	11
2.2.3.4 Proteínas de unión a motivos LPXTG .....	11
2.2.3.5 Proteínas de unión a colina .....	11
2.4 Pili .....	12
2.5 Colonización Nasofaríngea .....	12
2.6 Respuesta del Huésped contra la colonización por Neumococo.....	13
2.6.1 Respuesta innata del hospedador durante la colonización .....	13
2.6.2 Respuesta de Anticuerpos contra de antígenos polisacáridos ....	15
2.7 Vacunas contra Streptococcus Pneumoniae .....	15
2.8 Patologías que predisponen a la infección por Neumococo .....	16
2.9 Inmunodeficiencias primarias .....	17
2.9.1 Manifestaciones Respiratorias de Inmunodeficiencias Primarias ..	19
2.9.2 Deficiencia de Subclases de Inmunoglobulinas .....	20
2.9.3. Deficiencia de Anticuerpos contra polisacáridos.....	21
<b>3. Justificación.....</b>	<b>17</b>
<b>4. Hipótesis .....</b>	<b>17</b>
<b>5. Objetivos .....</b>	<b>18</b>
<b>6. Material y Métodos.....</b>	<b>18</b>
<b>7. Resultados .....</b>	<b>28</b>
<b>8. Discusión .....</b>	<b>35</b>
<b>9. Conclusión.....</b>	<b>36</b>
<b>10. Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>37</b>

# **PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA POLISACÁRIDOS EN PACIENTES CON RINOSINUSITIS CRÓNICA , OTITIS MEDIA CRÓNICA Y NEUMONÍA RECURRENTE.**

## **1. INTRODUCCION**

Las infecciones respiratorias en oídos, nariz, senos paranasales y garganta, son a nivel mundial unas de las causas más frecuentes de atención médica. Aunque su diagnóstico y tratamiento han mejorado en las últimas décadas, existe un número de pacientes con pobre respuesta al manejo médico. El diagnóstico diferencial detrás de las infecciones de vías aéreas superiores de repetición incluye alergia, defectos anatómicos (obstrucción ostial), trastornos del movimiento mucociliar (síndrome sinobronquial), poliposis nasal, fibrosis quística, e inmunodeficiencias secundarias y primarias<sup>1,2</sup>.

El principal papel del sistema inmunitario es protegernos del peligro que suponen los microorganismos patógenos invasores. Mutaciones en los genes que codifican para las proteínas del sistema inmunitario resultan en las inmunodeficiencias primarias (IDP), un grupo de más de 250 enfermedades congénitas de presentación clínica variable con una susceptibilidad incrementada a infecciones <sup>3</sup>.

Las IDP son sub-diagnosticadas en todo el mundo, incluso en centros de tercer nivel. Como grupo, las IDP son tan frecuentes como las neoplasias hematológicas (leucemia y linfoma), y 4 veces más que la fibrosis quística<sup>4</sup>. Su incidencia global se ha calculado en 1:10,000 recién nacidos vivos, pero hay defectos aislados tan frecuentes como 1:20 (deficiencia de MBL) o 1:500 (deficiencia selectiva de IgA) <sup>5</sup>. En pacientes hospitalizados con sinusitis refractaria, neumonía recurrente o bronquiectasias, se ha encontrado una prevalencia de IDP de 8-10% <sup>6</sup>.

El grupo de IDP más prevalente es el de los defectos de anticuerpos, con un porcentaje cercano al 50% (rango de 30 a 77%) de todas las IDP, dependiendo del país que lo reporte <sup>7</sup>. Los defectos de anticuerpos incluyen Agammaglobulinemia ligada al X (XLA, Enfermedad de Bruton), Inmunodeficiencia común variable (CVID); Agammaglobulinemia autosómica-recesiva (ARA); Síndrome Hiper-IgM (HIGM); Deficiencia selectiva de IgA (SIgA); Deficiencia de subclases de IgG; y Defecto de anticuerpos específicos contra polisacáridos (SAD).<sup>8-13</sup>

Los defectos de anticuerpos suelen manifestarse clínicamente hasta después de los 6 meses de vida, con infecciones recurrentes de las vías respiratorias causadas por bacterias encapsuladas, así como infecciones enterovirales, con hipogammaglobulinemia profunda, y células B disminuidas o ausentes<sup>8</sup>. Algunas manifestaciones asociadas incluyen neutropenia, tejido linfoide ausente o no palpable, atopia, autoinmunidad, enfermedad granulomatosa, y cáncer colorrectal <sup>9</sup>.

Una serie de procedimientos quirúrgicos en la otorrinolaringología (ORL) como son la Adenoamigdalectomía, la ampliación de las vías de drenaje de los senos paranasales y la colocación de tubos de ventilación trans-timpánicos se indican en pacientes con infecciones respiratorias de repetición que no han respondido satisfactoriamente al manejo médico<sup>12</sup>. Los pacientes con infecciones respiratorias complicadas o de repetición que ameritan una intervención quirúrgica, constituyen un grupo de alto riesgo para IDP por defectos de anticuerpos. En series retrospectivas de pacientes adultos con rinosinusitis crónica refractaria se ha encontrado una prevalencia alarmantemente alta de deficiencia de anticuerpos<sup>13-16</sup>

El *Streptococcus pneumoniae* es una bacteria gram positiva, que coloniza con frecuencia la nasofaringe de los humanos, puede causar otitis media, sinusitis y puede también ser la etiología de cuadros invasores como septicemia, meningitis y neumonía. Las infecciones por *Streptococcus pneumoniae* son la primera causa de muerte por enfermedades inmunoprevenibles de acuerdo a estimaciones de la Organización mundial de la Salud (OMS). Los grupos de riesgo de desarrollar Enfermedad Neumocócica invasiva (ENI) son los menores de 2 años, los adultos mayores y los inmunocomprometidos.

La deficiencia de Anticuerpos contra polisacáridos puede presentarse de manera aislada o asociada a diferentes IDP. Las manifestaciones clínicas incluyen infecciones sinopulmonares, sinusitis y otitis recurrentes que suelen ser más severas o prolongadas, presentando Inmunoglobulinas normales y respuesta contra proteínas a antígenos anormales en pacientes de más de dos años. Existen 4 fenotipos (leve, moderada, severa y de memoria). La prevalencia no está bien establecida, se refiere del 15-58%. En estudios recientes se reporta que el 12% de los pacientes con rinosinusitis crónica refractaria tuvieron SAD. Es común que estos pacientes presenten enfermedades atópicas incluyendo asma y rinitis alérgica. Los títulos protectores basales de anticuerpos contra polisacáridos deben de ser mayores de 4mg/ml. La respuesta tiene que ser en más del 70% de los serotipos estudiados<sup>16</sup> Nuestro instituto es un centro de referencia donde se atiende con mucha frecuencia infecciones recurrentes de vías respiratorias altas y bajas con fallas en el tratamiento habitual, un 25% de estos pacientes continúan con falla al tratamiento; la SAD podría estar involucrada en un número relevante de estos pacientes.

Esta deficiencia se ha reportado con defectos de células B, tales como defecto en el swich de células B, incremento en CD5<sup>+</sup>; también se han descrito alteraciones en las células T y la inmunidad innata. Existe un incremento en el porcentaje de Cd4<sup>+</sup> IL5<sup>+</sup>, disminución de Foxp3<sup>+</sup>. Se ha reportado una diferencia de Cd14<sup>++</sup> CD16<sup>+</sup>/Cd16<sup>-</sup> lo que sugiere que puede existir una alteración del desarrollo correcto de estas células. Diversos estudios comentan que las alteraciones pueden ser observadas en células T, soportando que la inmunodeficiencia del SAD es más complejo que lo descrito hasta la actualidad.

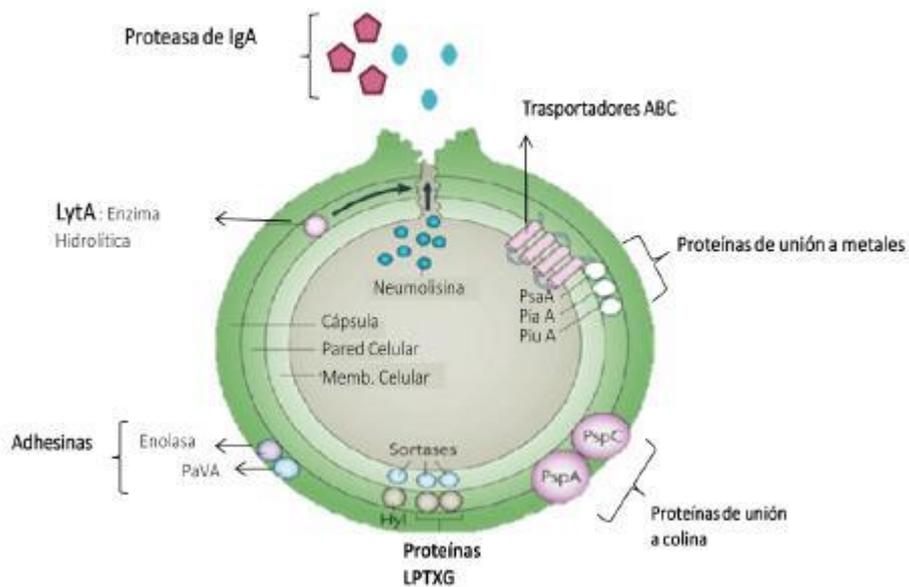
## 2. ANTECEDENTES:

### 2.1 INCIDENCIA DE NEUMOCOCO:

*Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es una bacteria gram positiva que tienen un rol preponderante en la casualidad de las infecciones respiratorias prevalentes de la comunidad es el patógeno aislado con mayor frecuencia en infecciones focales, como otitis media aguda y sinusitis y el más frecuentemente relacionado con las infecciones invasivas en niños menores de 5 años. El grupo de riesgo para las enfermedades neumococcicas incluyen niños menores de 5 años, personas adultas mayores de 65 años y personas inmunocomprometidas específicamente aquellas que poseen defectos en sus linfocitos B, deficiencias en el sistema de complemento, esplenectomía, mal funcionamiento del bazo, defectos en el receptor de interleucina 1, pacientes con HIV o pacientes con deficiencia de tipo humoral tal como deficiencia de subclases de IgG o deficiencia de anticuerpos vs polisacáridos. En EEUU el 10-25% del total de las neumonías están producidas por el neumococo. La incidencia de bacteriemia es de 15-19/100,000 personas/año, originando estos cuadros más de 40,000 muertes anuales en EEUU. Por otra parte, se calcula que a los 3 años más del 29% de los niños han tenido uno o más episodios de OMA por *Streptococcus pneumoniae*, lo que supone unos 24 millones de visitas médicas al año en EEUU. En España las tasa de neumonía de todas las etiologías era de 420/100 000 habitantes en 2010, se calcula que el 21.4% eran de etiología neumococo. Por otra parte se considera que el 30-40% de la OMA está producidas por neumococo. Estos datos nos dan una idea aproximada de la importancia de la infección neumococcica en nuestro medio.

### 2.2 FACTORES DE VIRULENCIA Y MECANISMOS DE ACCION:

Para lograr una colonización exitosa, neumococo tiene la necesidad de adherirse, persistir, multiplicarse e invadir el tejido respiratorio. Este es un colonizador muy eficaz y ha desarrollado mecanismos para silenciosamente coexistir con el hospedador en la nasofaringe.



Se ha planteado que una mejor comprensión del papel que desempeñan los factores de virulencia permitirá dilucidar la patogénesis de la infección producida por *S. Pneumoniae* lo cual es esencial para el desarrollo de nuevas estrategias para el tratamiento y prevención de la enfermedad neumococcica. A su vez, la forma en que los factores de virulencia se distribuyen en las distintas cepas podría ayudar a identificar las asociaciones entre estos factores y los distintos tipos de enfermedad que produce neumococo. Sin lugar a dudas, el principal factor de virulencia es su capsula polisacárido ya que cumple un rol central en la colonización invasión y diseminación a partir del tracto respiratorio. Sin embargo, ciertas proteínas neumococco juegan un papel en la patogénesis de la enfermedad, ya sea bien como mediadores de la inflamación o bien por ataque directo de los tejidos de huéspedes. (Tabla 1).

<b>Tabla 1: Principales factores de virulencia involucrados en la patogenicidad del <i>Streptococcus Pneumoniae</i>.</b>	
	<b>Mecanismo de Acción</b>
Capsula	Impide eliminación de la mucosa, actividad antifagocítica, impedimento estérico del complemento y de la unión de inmunoglobulinas a receptores del hospedero
Pili	En la superficie celular impide fagocitosis y promueve la invasión
Acido teicoico	Se une al receptor del factor activador de plaquetas (PAF) ligando de TLR-2 y actividad pro inflamatoria.
Fosforilcolina	La fosforilcolina presente en la pared celular interactúa con el factor activador de plaquetas y permite la translocación del neumococo a través del epitelio
Transportadores ABC	Han estado implicados en la virulencia del neumococo Ami y PIP (Ali) son transportadores de oligopeptidos (involucrados en competencia)
<b>Proteínas CBPs</b>	
LytA	NAM-amidasa Principal autolisina
LytB	N-acetilglucosamidasa
LytC	Lisozima Autolisina a 30oC
Pce	Fosforilcolin esterasa. Hidrolasa de pared celular. Se une a plasminogeno
PspC	Se une al receptor polimérico de inmunoglobulinas (plg) en las células epiteliales
PspA	Recientemente se demostró que se une a la cadherina E en las células epiteliales
<b>Proteínas LPTXG</b>	
NanA	Neumoamonidas
Proteasa igA1	Inactiva la IgA humana y media el incremento de adhesión del neumococo al epitelio.

Lipoproteínas	
Psa A	Lipoproteína transportadora de manganeso
PiuA/PiA	Componentes lipoproteicos de transportadores ABC, adquieren hierro para crecimiento bacteriano y virulencia
Otras proteínas	
GADPH	Gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa. Se une a plasminogeno
PavA	Se une a la fibronectina y esto favorece la unión a las células del huésped
Eno	Se une al plasminogeno y esto favorece la unión a las células del huésped
Neumolisina	Citolisis, ligando de TLR-4 induce ciliostasis, impide estallido respiratorio, activación de complemento y producción de citocinas y quimiocinas.
ABC: cassette de unión a ATP, LytA/B/C: lisozima A/B/C, PspC: Proteína de unión a superficie C, se denomina también CbpA, SpsA y PbcA, PspA: proteína de unión a superficie A, Proteasa de IgA1: Proteasa de la inmunoglobulina A1 humana, NAM-amidasa: N-acetilmuramil-L-alanina amidasa.	

### 2.2.1 CAPSULA POLISACÁRIDO

La virulencia e inasividad de neumococo varían de acuerdo con los serotipos y depende de la composición química y de la cantidad de polisacárido capsular producido. Estas diferencias determinan a la supervivencia de la bacteria en la circulación y las posibilidades de ocasionar enfermedad invasora. Esto es, la capacidad de la bacteria para activar el sistema de complemento y evitar su depósito en la capsula y por otra parte la resistencia a la fagocitosis y capacidad para inducir anticuerpos. A pesar de ser el principal factor de virulencia, aun no es completamente conocido el mecanismo patogénico de la capsula en el hospedero más allá de que tradicionalmente se dice que la misma es antifagocítica. Pues un lado, dado que el polisacárido capsular esta, en gran medida, cargado negativamente, inhibe estéricamente la interacción entre los receptores fagocíticos CR3 y Fc gamma con los componentes iC3b y el componente Fc de la IgG respectivamente. De esta manera, permite que las bacterias permanezcan en el espacio extracelular sin ser fagocitadas. Por otro lado, la capsula es esencial para la colonización debido a que impide la remoción de las bacterias mediante el mucus, restringe la autólisis y reduce la exposición a los antibióticos.

Sin embargo, pese a las estrategias de evasión de neumococo frente al sistema inmune innato, los anticuerpos contra el polisacárido capsular protegen al huésped contra el serotipo homólogo mediante la opsonofagocitosis. A pesar de que la entigenicidad de la capsula es tipo-especifica al compartir polisacáridos con otros serotipos, se puede dar la reactivada cruzada.

Existen notables diferencias respecto a la frecuencia de los serotipos encontrados en aislados clínicos entre pacientes adultos o niños y entre aislados de distintos países. Del mismo modo existe variación cuando se estudia las frecuencias de serotipos de un país o zona geográfica a lo largo del tiempo. Se han descrito 90 serotipos capsulares en neumococo, química e inmunológicamente diferentes entre sí. Durante los años 1950 y 1970 se llevaron a cabo numerosos estudios acerca de los procesos

bioquímicos que tienen lugar durante la biosíntesis capsular, así como sobre los factores genéricos subyacentes.

## **2.2.2 PARED CELULAR**

La capa por debajo de la capsula polisacárido es la pared celular y consiste en una estructura rígida que rodea la membrana citoplasmática y que está constituida por peptidoglicanos a los que se unen proteínas, hidratos de carbono y lipoproteínas. El peptidoglicano tiene acción antigénica. Asociados a este se encuentran los ácidos lipoteicoicos que afloran a la superficie y actúan como mediadores de la adherencia a las células epiteliales de la mucosa. La pared celular induce una intensa reacción inflamatoria que acompaña la infección por neumococo lo que provoca el reclutamiento de células inflamatorias, la activación del complemento y la producción de citocinas. En la pared celular también se encuentran los determinantes antigénicos de grupo, como por ejemplo el polisacárido C (Ps-C). Este carbohidrato es el mayor componente estructural de la pared celular de todos los neumococos. Es un polímero de ácido teicoico que contienen fosforilcolina como determinante antigénico mayoritario, siendo esta la responsable de la interacción de neumococo con la proteína C reactiva. La unión de la proteína C reactiva al polisacárido C, activa el complemento y media la fagocitosis.

## **2.2.3 PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA PATOGÉNESIS DE S PNEUMONIAE**

### **2.2.3.1. NEUMOLISINA**

Proteína neumolisina (codificada por el gen Ply) es un factor de virulencia que pertenece a la familia de toxinas formadoras de poros, producidas por más de 20 especies de bacterias Gram positivas. Es una proteína intracelular por lo que originalmente se creía que solo se liberaba durante la autólisis, aunque en la actualidad es sabido que es independiente de este proceso. Esta toxina se une al colesterol de la membrana celular del huésped y forma poros grandes, de 30nm de diámetro, mediante la oligomerización de alrededor de 50 monómeros de la toxina.

En bajas concentraciones, induce una respuesta pro-inflamatoria en conjunto con la producción de especies reactivas de oxígeno y otros mediadores inflamatorios. Su papel en la patogénesis de la infección realizó estudios en animales, en los que se utilizaron cepas mutadas de *S pneumoniae* donde se interrumpió o eliminó el gen que codifica la toxina. En estos modelos se observó que la ausencia de neumolisina redujo la virulencia del microorganismo en las vías de infección intranasal y sistémica.

Asimismo, cuando se inocularon estas cepas mutantes en el pulmón de ratón se detectó no solo un retraso sino también una disminución en la intensidad de la respuesta inflamatoria y en el reclutamiento celular en respuesta a la infección (en comparación con la provocada por la bacteria salvaje), principalmente a nivel de neutrófilos. También se observó retraso y disminución en la redistribución de los linfocitos T y B dentro de los bronquiolos inflamados y alrededor de estos

Recientemente, una variante en el alelo ply (ply4496) de un linaje hipervirulento del serotipo 1 mostró reducida actividad hemolítica. Utilizando un modelo murino, se observó un mayor recuento bacteriano en sangre en el caso de los animales infectados con la cepa mutante en comparación con los que recibieron la cepa salvaje (D39), lo que sugiere que la reducción en la actividad hemolítica confiere una ventaja de crecimiento en sangre.

En resumen, los principales efectos de neumolisina incluyen su actividad lítica y de activación del complemento. Estas acciones contribuyen de manera variable según el tipo de infección.

### **2.2.3.2 PROTEÍNAS DE SUPERFICIE**

Las proteínas de superficie son en parte las responsables de las características hidrofóbicas y electroestáticas de *Neumococo* y pueden facilitar la adherencia a las células del huésped mediante interacciones no específicas e interacciones fisicoquímicas. Se han identificado tres grupos principales de proteínas de superficie en *S. Pneumoniae* que son lipoproteínas, proteínas con motivos LPXTGH unidas covalentemente al peptidoglicano de la pared celular y proteínas de unión a colina.

### **2.2.3.3 LIPOPROTEÍNAS**

Se han descrito cerca de 50 lipoproteínas diferentes, dentro de las que se encuentra PsaA. Esta proteína juega un rol muy importante durante las primeras etapas de colonización de *Neumococo* al actuar como adhesina y favorecer la unión de *Neumococo* a la superficie del epitelio no inflamado. PsaA pertenece al sistema de transporte ABC (ATP-binding cassette) involucrado en la captación de manganeso y zinc. En especial el manganeso es de vital importancia para el normal crecimiento de *Neumococo* dado que es imprescindible en la resistencia contra el estrés oxidativo.

Otras lipoproteínas que contribuyen con la virulencia son SlrA, PpmA, Pia y Piu ya que mutantes deficientes en estas lipoproteínas mostraron reducida virulencia en modelos de neumonía y bacteriemia. PiaA y PiuA son relevantes en la captación de hierro el cual también es importante para el correcto crecimiento de *Neumococo*.

### **2.2.3.4 Proteínas de unión a motivos LPXTG**

Las proteínas de unión con motivos LPXTG tienen principalmente funciones enzimáticas o de adhesión. Distintos tipos de estas proteínas de superficie contribuyen con la virulencia entre las que se encuentran la hialuronidasa, la neuroamidasa, la serina proteasa PrtA y la proteasa de IgA1 humana. Tanto la hialuronidasa como la neuraminidasa son importantes, ya que provocan daños directos sobre el huésped y favorecen la colonización por *Neumococo*.

La proteasa de la inmunoglobulina A1 humana es un factor que limita la efectividad de la respuesta inmune humoral de la mucosa ya que específicamente cliva la IgA humana. Se ha mostrado que la IgA unida a la bacteria, al ser clivada por esta proteasa, facilita la adherencia de *Neumococo* a las células del tracto respiratorio alto promoviendo la colonización inicial. Debido a la actividad de la proteasa de IgA1, la reducción de carga bacteriana mediada por anticuerpos puede ocurrir solo después de que otras clases y subclases de anticuerpos específicos hayan sido generadas en cantidades suficientes. Es interesante considerar que estas proteasas de IgA son producidas también por otras bacterias capaces de producir infecciones invasoras severas como *H. Influenzae* tipo B y *N. Meningitidis*.

### **2.2.3.5 Proteínas de unión a colina.**

Una característica única de *Streptococcus pneumoniae* es su requerimiento nutricional por la colina, la cual es adquirida del medio de crecimiento e incorporada en las unidades repetidas de ácido teicoico y ácido lipoteicoico. Algunas de estas proteínas de unión a colina como PspA, PspC y cuatro enzimas hidrolíticas de la pared celular (LytA, LytB, LytC, CbpE) se asocian con virulencia. El rol de PspA en la virulencia de

neumococo ha quedado evidenciado en modelos experimentales en los que se ha visto que las cepas mutantes incapaces de producir PspA son eliminadas más rápidamente en comparación con las cepas salvajes. La capacidad de PspA para inhibir la activación de complemento durante la etapa temprana de la infección permite al neumococo evadir los mecanismos de defensa del huésped encargados de su eliminación.

PspC promueve la adherencia de neumococo ya que es capaz de interactuar con el componente secretorio del receptor polimérico de las inmunoglobulinas (pIgR). Este es el responsable de la translocación de los anticuerpos de tipo IgM e IgA secretorios en el pulmón y podría servir como primer paso en la translocación a través del epitelio respiratorio. En cuanto a su otra función, PspC puede unirse al factor H, que es un regulador negativo de la vía alterna del complemento que actúa impidiendo la activación de C3b y por tanto de la opsonofagocitosis mediada por complemento.

Por otra parte LytA, también conocida como autolisina, hidroliza el peptidoglicano a péptidos y residuos de glicano. De esta forma lleva a la lisis del neumococo y a la liberación de peptidoglicano y ácidos teicoicos, así como también de neumolisina, si bien la liberación de esta última no es totalmente dependiente de la autolisina. Así mismo LytB, LytC y CbpE intervienen en la colonización de la nasofaringe.

## **2.4 PILI**

En el año 2006 se identificó la presencia de pili en la superficie de *S pneumoniae*. El pili interviene en la virulencia, es el mediador del anclaje de la bacteria en las células y también estimula la síntesis de citosinas pro inflamatoria. Además, se identificó otra clase de pili que interviene en la adherencia de neumococo a las células epiteliales. Aunque no todas las cepas de *S. Pneumoniae* poseen pili, algunas expresan los dos tipos.

## **2.5. COLONIZACIÓN NASOFARÍNGEA**

Como vimos anteriormente *S pneumoniae* puede formar parte de la micro biota del tracto respiratorio superior y puede ser fácilmente cultivado a partir de la naso-oro faringe. La nasofaringe es una cavidad permeable, es decir, está continuamente abierta al aire y una de sus funciones radica en la ventilación del oído medio. En los casos en que neumococo supera las barreras de defensa del hospedador y alcanza regiones estériles como el oído medio o los senos paranasales, puede provocar patologías como otitis media o sinusitis respectivamente.

Neumococo se transmite a través de la formación de aerosoles. Esta diseminación horizontal permite el contagio entre los individuos del entorno directo, dando lugar a la propagación en la comunidad.

En los niños, neumococo tienen una prevalencia del 30 a 60%, mientras que en adultos es del 1-10%. En algunos estudios ha mostrado que más del 95% de los niños pueden haber sido colonizados por 6 serotipos distintos a la edad de dos años pero a medida que crecen, la prevalencia de la portación disminuye y la distribución de los serotipos coloniza té varia, pudiéndose encontrar incluso algunos de los serotipos prevalentes en adultos. Antes de los 9 años de edad la colonización se mantiene por encima del 30-40% pero luego disminuye progresivamente. Generalmente la colonización es asintomática pero en algunos casos deriva en distintos tipos de enfermedad. Este espectro clínico desde la colonización hacia la enfermedad neumococcica invasiva dependería del serotipo capsular de neumococo en lugar de

los antecedentes genéticos. De acuerdo con la revisión de la literatura, los serotipos 1, 4, 5,7F, 8,12F, 14,18C y 19<sup>a</sup> son los más propensos a causar ENI.

La colonización nasofaríngea es un proceso dinámico en cuanto a la rotación de serotipos y especies colonizan tés. A su vez existe competencia interespecies y entre las diferentes cepas de *S. Pneumoniae* lo cual interfiere con la composición de la flora nasofaríngea. Por otro lado, la interferencia que se da a raíz de la vacunación sobre este tipo de relación de competencia, cooperatividad e inhibición entre las distintas cepas de una misma especie e interespecies, puede generar consecuencias graves e impredecibles en la composición de la flora nasofaríngea.

## **2.6 RESPUESTA DEL HUÉSPED CONTRA LA COLONIZACIÓN POR NEUMOCOCO**

La respuesta inmune del hospedador juega un rol muy importante en el control de la carga bacteriana. La respuesta inmune que involucre a los fagocitos, células B (anticuerpos contra la capsula polisacáridos de neumococo y contra sus proteínas de superficie) y células T, remueve rápidamente la colonización por neumococo. Por el contrario una respuesta inmune débil determina una colonización más prolongada.

### **2.6.1 RESPUESTA INNATA DEL HOSPEDADOR DURANTE LA COLONIZACIÓN**

La activación de los mecanismos de defensa del sistema inmune innato no solo es importante en contener la infección sino también en mantener la homeostasis. Los mismos colaboran con el desarrollo de respuestas inmunes celulares destinadas a proteger el epitelio respiratorio de la invasión por patógenos específicos.

Esta ampliamente demostrado que el complemento juega un rol muy importante en la protección contra la infección por neumococo debido a su capacidad de opsonizar la bacteria para que pueda ser eliminada por opsonofagocitosis.

Sin embargo, su rol en la protección contra la colonización es discutido debido a resultados un tanto contradictorios. Otro componente principal de la respuesta inmune innata es la proteína C reactiva (PCR del inglés C reactive protein), la cual juega un rol crucial en la defensa del hospedador contra *S. Pneumoniae*. PCR es una proteína de fase aguda, producida por las células epiteliales, que habitualmente se encuentra en el suero pero cuya concentración se ve incrementada durante la inflamación.

Esta proteína tiene varias funciones debido a su capacidad de unirse a la fosforilcolina que expresa neumococo en su superficie. Por un lado, esta unión induce la activación de la vía clásica del complemento potenciando de esta manera su opsonización.

Por otro lado, dicha unión inhibe la adhesión de la bacteria al receptor del factor activador de plaquetas en la superficie de las células del huésped. De esta manera ayuda a eliminar la colonización del tracto respiratorio alto, evitando que el neumococo migre a través de las capas endoteliales y epiteliales en un proceso denominado invasión de tejido peri celular. Por otra parte, la señalización a través de los receptores tipo Toll activa la respuesta innata de las mucosas que finaliza en el reclutamiento de fagocitos como neutrófilos y macrófagos.

El adaptador mejor caracterizado por su participación en la señalización de la mayoría de los TLR es MyD88. A partir del mismo se activan las cuatro vías principales de

señalización: la vía del factor nuclear de transcripción  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ) y tres vías de proteinquinas activadas por mitógenos (MAP quinasas).

Los ratones que carecen de MyD88 son incapaces de controlar el crecimiento de patógenos respiratorios como *S. Pneumoniae*. Los TLR-2, TLR-4 y TLR-9, así como también la proteína adaptadora MyD88, participan en la detección temprana y posterior eliminación de neumococo en los pulmones. Los receptores citosólicos NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain) tipo 1 y 2 reconocen diferentes porciones de peptidoglicano de neumococo. Utilizando ratones deficientes en los distintos receptores tipo Toll se determinó que TLR9 es el receptor que juega el rol más importante en la infección por neumococo ya que solo los animales TLR9  $-/-$  fueron altamente susceptibles a la infección letal. TLR-9 detecta ADN bacteriano (motivos CpG no metilados) y parece ser esencial para la fagocitosis y destrucción eficaz de los neumococos por los macrófagos pulmonares.

TLR-4, por otra parte se activa en presencia de la neumolisina. Estudios in vivo con ratones deficientes en TLR-4 (TLR 4  $-/-$ ) han demostrado una mayor sensibilidad, mayor carga bacteriana y un aumento en la apoptosis de las células del tracto respiratorio alto a tiempos tempranos durante la colonización y luego de la infección pulmonar por neumococo, en dosis bajas.

Los componentes de la pared celular de neumococo como el ácido lipoteicoico (LTA) y las lipoproteínas (LBP) son reconocidas por TLR-2. El rol de TLR 2 ha sido estudiado en diferentes modelos in vivo de infección neumococcica. Por un lado, hay estudios que mostraron que TLR-2 es importante en etapas tempranas de la colonización por neumococo. Sin embargo otros estudios mostraron resultados contradictorios que sugieren que TLR-2 podrían desempeñar un papel perjudicial durante fases tempranas de la colonización por alterar la integridad de la barrera epitelial y la promoción de la translocación neumococcica.

Por otra parte, algunos autores han sugerido que en el caso de la neumonía neumococcica, TLR-2 no tendría un rol muy importante. Por el contrario, en un estudio llevado a cabo por Lee y colaboradores se plantea la existencia de un efecto sinérgico entre TLR-2 y TLR-4, así como también entre TLR-2 y TLR-9, respecto a la liberación de quimiocinas y citosinas en respuesta a la infección por un serotipo determinado de *S. Pneumoniae*.

En resumen estos datos indican que las células de la respuesta innata expuestas ante *S. Pneumoniae* pueden integrar las señales de hasta tres receptores tipo Toll distintos (tanto intracelulares como extracelulares) e inducir una respuesta rápida y sinérgica de citosinas y quimiocinas que juegan un rol crítico en la defensa temprana del hospedador frente a neumococo.

También hay que mencionar otros PRs como los receptores MARCO Y CD14 que también juegan un rol importante en el reconocimiento de este patógeno.

Se ha mostrado, in vitro que el receptor MARCO presente en los macrófagos alveolares es capaz de unir y mediar la internalización de neumococo, así mismo ratones Marco  $-/-$  tienen una mayor susceptibilidad a la infección por neumococo.

Mientras que CD14 es otro receptor que ha mostrado ser importante en la invasión de *S. Pneumoniae* desde las vías aéreas hacia la sangre. Es importante mencionar el rol que cumplen tanto los macrófagos como los neutrófilos en conjunto con determinadas citosinas durante esta primera etapa de defensa contra el neumococo.

Entre el primer y tercer día luego de la colonización se observa un notorio flujo de neutrófilos hacia el lumen de cavidades nasales que se asocia a una reducción de la

carga bacteriana. El flujo continuo de neutrófilos se atribuye al efecto quimio táctico de la IL-8, la cual es sintetizada por las células epiteliales, glandulares y leucocitos. También la función de IL-3 es importante pues se sintetiza por las células T activadas y permite la estimulación, diferenciación y activación de macrófagos, neutrófilos, mastocitos y eosinófilos. Sin embargo a pesar del infiltrado de neutrófilos, la colonización por *S. Pneumoniae* persiste.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) es de particular importancia dado que al inhibirlo o eliminarlo el neumococo es capaz de aumentar su población y logra una mayor diseminación. Este efecto está principalmente mediado por el receptor de tipo I del TNF. La interleucina 1 (IL-1) parece tener el mismo rol proyectivo aunque de menor importancia. La inhibición de ambos, TNF- $\alpha$ , e IL-1 hace a los animales más susceptibles a contraer neumonía y otros tipos de infecciones. Esta respuesta inflamatoria aguda es capaz de controlar la colonización inicial pero actúa promoviendo la respuesta inmune adaptativa y la eliminación posterior de la bacteriana.

## **2.6.2 RESPUESTA DE ANTICUERPOS EN CONTRA DE ANTÍGENOS POLISACÁRIDOS**

Los antígenos polisacáridos son polímeros de alto peso molecular, que poseen numerosos determinantes antigénicos repetidos. Este tipo de moléculas, tienen la capacidad de entrecruzar los receptores de LB y activarlo, sin la participación de los LT; a este tipo de defensa se la denomina "Timo independiente".

El primer paso en la activación de los LB por antígenos polisacáridos es la unión a inmunoglobulinas de superficie (mIg o BCR) y el entrecruzamiento de las mismas.

Esta primera señal puede inducir la activación y proliferación del LB, pero se han planteado segundas señales co-estimuladoras provenientes del sistema de complemento, que actuarían a través del complejo molécula de polisacárido-fragmento C3d y su unión al receptor del complemento CD21 presente en los LB.

Este tipo de inmunidad puede estar mediada por linfocitos B1 presentes en las cavidades peritoneal y pleural u OB de la zona marginal del bazo (BZM), siendo los BZM los que cumplen un papel relevante en la defensa contra las bacterias encapsuladas. Los BZM son los primeros en entrar en contacto con los antígenos que circulan en la sangre y responden frente a antígenos polisacáridos de bacterias capsulares como el *S. Pneumoniae* con la producción de IgM, IgG2 e IgA.

Durante el desarrollo de una respuesta inmune adaptativa se producen anticuerpos efectoros de alta afinidad, específicos para el patógeno o el inmunógeno. Estos se dan como resultado de la interacción entre las células B y las células T colaboradoras CD4 positivas (LT CD4+). Esta respuesta específica, pero lenta denominada "timo dependiente" (T-dependiente), involucra generalmente a las células B2 que constituyen más del 90% de los LB en sangre y en órganos linfoides secundarios.

## **2.7 VACUNAS CONTRA ESTREPTOCOCOS PNEUMONIAE**

A pesar del éxito parcial que han tenido las vacunas polisacáridos como la Pneumovax 23 (Merck) y las vacunas conjugadas (polisacáridos-proteínas) como la Preenar 13 (Pfizer) no ha sido posible conseguir que protejan ante la mayoría de los serotipos de importancia epidemiológica. Aun así se creyó que si se lograba generar protección en contra de suficientes serotipos con vacunas conjugadas de nueva generación, se

lograría controlar la incidencia de infección por neumococo significativamente a nivel mundial.

Con el tiempo esto no funciona, dejando de manifiesto que era necesario desarrollar nuevas estrategias de vacunación frente a esta bacteria. En este sentido se han propuesto diversos antígenos proteicos alternativos como candidatos para una vacuna, entre ellos la pneumolsina, que es un antígeno característico de la especie, dado su potencial para inducir protección contra la mayoría de los serotipos del neumococo.

El uso de antígenos proteicos tienen como beneficio agregado un menor costo de producción lo que facilitaría su aplicación, sobre todo en países en vías de desarrollo. Además, al ser proteínas comunes a todos los serotipos, este tipo de antígeno aportaría mayor inmunogenicidad y cobertura que la obtenida a través de antígenos polisacáridos, sobre todo en niños menores a dos años y en ancianos.

Debe considerarse que estas estrategias lo que buscan es estimular la inmunidad humoral, que es importante en el control de la infección invasiva y la colonización, pero ninguna tiene en cuenta el componente de la inmunidad celular que sería importante para controlar la colonización y posiblemente la enfermedad en mucosas. Lo cierto es que aún no se logra una forma de vacunación lo suficiente amplia y efectiva para controlar esta enfermedad a largo plazo y la disminución de la misma es de importancia de salud pública tanto local como mundial.

## **2.8 PATOLOGÍAS QUE PREDISPONEN A INFECCIÓN POR NEUMOCOCO**

Algunas patologías de la infancia parecen predisponer a un riesgo mayor de infección por *S.Pneumoniae*, entre ellas se encuentra asma atópica y algunas inmunodeficiencias primarias. Los niños que a edades tempranas presentan signos de asma y atopia tienen menores concentraciones de inmunoglobulinas IgG1 bacteria-específicas con respecto a la población general. Lo mismo ocurre con los niños que son susceptibles de desarrollar exacerbación asmática frente a infecciones virales<sup>24</sup>.

En este contexto, concentraciones reducidas de IgG1 sugieren una mayor susceptibilidad a contraer infecciones bacterianas y pueden denotar además, deficiencias subyacentes en cuanto a los mecanismos de inmunovigilancia, teniendo en cuenta es de importancia destacar que varios reportes sugieren que en los individuos asmáticos existe una susceptibilidad aumentada a contraer infecciones por neumococo<sup>25</sup>.

Por otro lado, inmunodeficiencias primarias como la Agamaglobulinemia, la inmunodeficiencia común variable o deficiencias selectivas de anticuerpos en particular, aquellas que incluyen una deficiencia de subclase de inmunoglobulinas IgG2 se caracterizan por predisponer a los individuos que la padecen a infecciones con microorganismos recubiertos de antígenos polisacáridos, como los neumococos<sup>26</sup>

Existe un grupo de pacientes inmunodeficientes que presentan una respuesta de anticuerpos pobre frente a antígenos polisacáridos, aunque sus niveles de inmunoglobulinas son normales y además parecen ser capaces de responder normalmente frente a antígenos proteicos. Este tipo de disfunción inmunológica se ha definido como deficiencia específica de anticuerpos contra antígenos polisacáridos y estos pacientes se denomina SAD (Specific Polysaccharide Antibodies deficiency) <sup>27</sup>.

## 2.9 INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS

Las inmunodeficiencias primarias (IDP) comprenden defectos hereditarios del sistema inmune, caracterizados por un incremento en el riesgo de infecciones y en muchos casos, susceptibilidad a autoinmunidad o malignidad<sup>28</sup>. Las IDP afectan a componentes del sistema inmune innato y adaptativo, incluyendo linfocitos B, linfocitos T, proteínas del complemento, macrófagos, células dendríticas, células NK y neutrófilos<sup>29</sup>.

Los avances recientes en Biología Molecular han ayudado a identificar el defecto primario. La caracterización genética es esencial para el diagnóstico preciso y tratamiento de pacientes con estas condiciones<sup>30</sup>.

El número de IDP conocidas ha incrementado considerablemente a través de 2 líneas de investigación: el análisis genético minucioso de los fenotipos clínicos conocidos y la investigación de nuevos fenotipos clínicos<sup>31</sup>. Más de 200 formas de IDP han sido descritas a la fecha. Se clasifican en nueve grupos de acuerdo a la Unión Internacional de Sociedades Inmunológicas y al Comité de Clasificación de Inmunodeficiencias Primarias (Tabla 2)<sup>32</sup>. Las deficiencias primarias de anticuerpos son la forma más común de IDP en humanos. Anteriormente eran atribuidos a defectos intrínsecos en las células B. Ahora se sabe que puede ser causado por alteración en otros tipos celulares incluyendo al sistema inmune innato y células T<sup>33</sup>.

---

**Tabla 2. Clasificación de Inmunodeficiencias Primarias**

Inmunodeficiencias combinadas sin fenotipo característico
Inmunodeficiencias combinadas con fenotipo característico
Deficiencia predominante de anticuerpos
Enfermedades por falta de regulación del sistema inmune
Defectos congénitos en el número y/o función de fagocitos
Defectos en inmunidad innata
Alteraciones auto inflamatorias
Deficiencias complemento
Fenocopias de Inmunodeficiencias Primarias

Las IDP confieren predisposición a infecciones por microorganismos oportunistas: *VEB*, *Neisseria*, *VPH*, *Streptococcus Pneumoniae*, *micobacterias*, *VHS* y *Cándida Albicans*<sup>29</sup>. Además, en algunos pacientes las IDP se asocian a alergia, angioedema, hemofagocitosis, autoinmunidad, microangiopatía trombótica y cáncer como resultado de errores innatos en la inmunidad y metabolismo<sup>31</sup>. El descubrimiento de estas asociaciones hace indispensable el conocimiento de la prevalencia de IDP en la población general.

Los 10 signos de alarma para sospecha de IDP fueron publicados en 1993 por la Fundación de Jeffrey Modell basados en un consenso de expertos<sup>34</sup>, los cuales tienen reconocimiento internacional y han contribuido al diagnóstico oportuno de IDP. La presencia de dos o más hacen necesaria la investigación para descartar

IDP<sup>11</sup> (tabla 3), hay que considerar que los signos de alarma podrían no cubrir todas las manifestaciones clínicas de IDP, por lo que solo deben ser considerados como orientadores para la sospecha de IDP.

**Tabla 3. Los 10 signos de alarma para Inmunodeficiencia Primaria**

10 Signos de alarma para IDP en niños	10 Signos de alarma para IDP en adultos
4 o más Infecciones de oído en 1 año	2 o más Infecciones de oído en un año
2 o más sinusitis en 1 año	2 o más sinusitis en 1 año en ausencia de alergia
2 o más meses con antibiótico con poco efecto	1 neumonía por año por más de 1 año
2 o más neumonías en 1 año	Diarrea crónica con pérdida de peso
Falla de medro	Infecciones virales recurrentes (gripe, herpes, verrugas y condiloma)
Abscesos cutáneos o en órganos recurrentes	Necesidad recurrente de antibióticos intravenosos para tratamiento de infecciones
Infección persistente por hongos en piel o mucosa oral	Abscesos cutáneos o en órganos recurrentes
Necesidad recurrente de antibióticos intravenosos para tratamiento de infecciones	Infección persistente por hongos en piel o mucosa oral
2 o más Infecciones severas, incluyendo septicemia	Infecciones por oportunistas
Historia familiar de IDP	Historia familiar de IDP

IDP Inmunodeficiencia Primaria. Estos signos de alarma fueron desarrollados por el consejo médico de la Fundación de Jeffrey Modell.

Las IDP son consideradas enfermedades raras. La Unión Europea define enfermedades raras a aquellas que afectan a menos de 5/10,000 RNV<sup>35</sup>. Están sub-diagnosticadas y el índice de sospecha es bajo en médicos de primer contacto<sup>36-37</sup>. La Sociedad Latinoamericana de Inmunodeficiencias (LASID) hasta noviembre de 2014 cuenta con un registro de 5,467 casos de IDP; 903 son pacientes mexicanos. Desafortunadamente, las cifras reportadas y las estimaciones obtenidas por otros autores dejan claro que las IDP están sub-diagnosticadas y subreportadas en nuestro país<sup>38</sup>.

Aproximadamente 50% de las IDP conocidas están asociadas con defectos en las células B que resultan en una inadecuada producción de anticuerpos específicos<sup>39</sup>, las que se reportan con mayor prevalencia son el déficit selectivo de IgA, Inmunodeficiencia común variable (IDCV) y agammaglobulinemia ligada al X (ALX). El 20% de las IDP son inmunodeficiencias combinadas de células T y B.<sup>40</sup>

De las cuales la inmunodeficiencia combinada severa (IDCS) es la forma más grave; donde la supervivencia más allá del primer año de vida es rara en pacientes no tratados. Aproximadamente 50% de los casos de IDCS están ligados al cromosoma X. El 10% de las IDP resulta por defectos en la maduración o función de las células T, por ejemplo Síndrome de Di George, mientras que el 18% resulta por alteraciones en

los fagocitos, como por ejemplo enfermedad granulomatosa crónica (EGC) o defectos en la adhesión leucocitaria.<sup>4</sup> Las deficiencias del complemento son las menos frecuentes y el más común es la deficiencia de C2. El diagnóstico se establece de acuerdo a criterios publicados por la OMS y la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias (ESID) <sup>41-42</sup>.

### 2.9.1. MANIFESTACIONES RESPIRATORIAS DE INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS.

Los síntomas y complicaciones respiratorios representan una causa significativa de morbilidad y mortalidad en los pacientes con IDP. La tomografía computarizada en combinación con otras técnicas de imagen y exámenes de laboratorio juegan un papel importante en la detección, caracterización y cuantificación del daño pulmonar.<sup>43</sup> Otro papel importante de las técnicas de imagen es evaluar la progresión del daño pulmonar, por lo que se debe realizar con regularidad especialmente en pacientes con deficiencia de anticuerpos. Las complicaciones respiratorias infecciosas pueden manifestarse desde etapas tempranas (tabla 3)<sup>44</sup>. Las complicaciones no infecciosas y manifestaciones clínicas aparecen usualmente durante el curso de IDP en la adolescencia o edad adulta. Los síntomas respiratorios de repetición representan una señal de atención para IDP y afectan tanto a vías aéreas superiores como inferiores. Las complicaciones a nivel de vías aéreas inferiores son usualmente consideradas más importantes y específicas para IDP ya que pueden determinar el pronóstico del paciente. Los síntomas respiratorios han sido divididos en infecciosos y no infecciosos.

**Tabla 3. Manifestaciones y complicaciones respiratorias de IDP y frecuencia promedio**

Manifestaciones respiratorias	Frecuencia
1. Infecciones respiratorias (rinosinusitis, otitis media, bronquitis y neumonía)	++++
2. Complicaciones y secuelas de infecciones respiratorias (bronquiectasias, abscesos pulmonares, empiema y neumatoceles)	++
3. Alteraciones estructurales de la vía aérea (engrosamiento bronquial y atrapamiento aéreo)	++
4. Enfermedad pulmonar intersticial (neumonía intersticial linfoide)	+
5. Enfermedades linfoproliferativas (linfoma, enfermedades linfoproliferativas benignas y linfadenopatía)	Raro

Los síntomas y complicaciones en vías aéreas pueden ser inferiores o superiores. Las complicaciones de vías aéreas inferiores se consideran más importantes y más específicas para IDP. De acuerdo a otra clasificación<sup>43</sup> pueden ser divididas en: infecciones de vías aéreas, enfermedades en vías aéreas, enfermedad pulmonar intersticial y enfermedad maligna.

Algunas patologías de la infancia parecen predisponer a un riesgo mayor de infección por *S.Pneumoniae*, entre ellas se encuentra asma atópica y algunas inmunodeficiencias primarias. Los niños que a edades tempranas presentan signos de asma y atopia tienen menores concentraciones de inmunoglobulinas IgG1 bacteria-específicas con respecto a la población general. Lo mismo ocurre con los niños que son susceptibles de desarrollar exacerbación asmática frente a infecciones virales<sup>24</sup>. En este contexto, concentraciones reducidas de IgG1 sugieren una mayor susceptibilidad a contraer infecciones bacterianas transmucosales y pueden denotar además, deficiencias subyacentes en cuanto a los mecanismos de inmunovigilancia, teniendo en cuenta es de importancia destacar que varios reportes sugieren que en los individuos asmáticos existe una susceptibilidad aumentada a contraer infecciones por pneumococo<sup>45</sup>

Por otro lado, inmunodeficiencias primarias como la Agamaglobulinemia, la inmunodeficiencia común variable o deficiencias selectivas de anticuerpos en particular, aquellas que incluyen una deficiencia de subclase de inmunoglobulinas IgG2 se caracterizan por predisponer a los individuos que la padecen a infecciones con microorganismos recubiertos de antígenos polisacáridos, como los neumococos<sup>26</sup>. Existe un grupo de pacientes inmunodeficientes que presentan una respuesta de anticuerpos pobre frente a antígenos polisacáridos, aunque sus niveles de inmunoglobulinas son normales y además parecen ser capaces de responder normalmente frente a antígenos proteicos. Este tipo de disfunción inmunológica se ha definido como deficiencia específica de anticuerpos contra antígenos polisacáridos y estos pacientes se denomina SAD (Specific Polysaccharide Antibodies deficiency) <sup>27</sup>.

## **2.9.2 DEFICIENCIA DE SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS**

Existen cinco tipos o clases de Inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE. La clase de anticuerpos IgG se encuentra compuesta por cuatro subtipos diferentes de moléculas IgG llamadas subclases IgG, pero que tienen los demás niveles de inmunoglobulinas normales, se dice tienen una deficiencia subclase IgG selectiva. Las subclases IgG1 e IgG3 son ricas en anticuerpos contra proteínas tales como las toxinas producidas por las bacterias de la difteria y tétanos, así como anticuerpos contra proteínas virales, en contraste los anticuerpos contra revestimiento de polisacáridos de alguna bacteria que causan enfermedades (neumococo e *haemophilus influenzae*) son predominantemente del tipo IgG2. Los anticuerpos de ciertas subclases IgG interactúan de manera pronta con el sistema complemento, mientras que otras lo hacen pobremente, si es que lo hacen, con las proteínas de complemento, por tanto la inhabilidad de producir anticuerpos de una subclase específica puede hacer que el individuo sea susceptible a ciertas clases de infecciones pero no a otras.

El IgG circulante en el torrente sanguíneo es 60-70% IgG1, 20-30% IgG2, 5- 8% IgG3 y 1-3% IgG4. La cantidad de diferentes subclases IgG presentes en el torrente sanguíneo varía dependiendo la edad. Por ejemplo IgG1 e IgG3 alcanzan niveles normales de adulto a los 5-7 años de edad mientras que los niveles de IgG2 e IgG4 aumentan más lentamente, alcanzando los niveles normales de adulto aproximadamente a los 10 años de edad. En niños jóvenes, la habilidad de producir anticuerpos contra el revestimiento de polisacáridos de bacteria, anticuerpos que

comúnmente son de la subclase IgG2 se desarrolla más lentamente que la habilidad de producir anticuerpos contra la proteína. Estos factores deben ser tomados en cuenta antes de considerar a un individuo como anormal, ya sea en virtud de tener un nivel bajo de subclase IgG o una inhabilidad de producir cierto tipo de anticuerpos.

Las infecciones recurrentes tal como otitis, sinusitis o neumonía son las enfermedades más comúnmente observadas en pacientes con deficiencia de subclase IgG. Algunos pacientes mostraran un aumento en la frecuencia de infecciones comenzando en su segundo año de vida, sin embargo en otros pacientes el comienzo de infecciones puede ocurrir más tarde. La deficiencia de subclase IgG es muy poco frecuente. La deficiencia de subclase IgG2 es la deficiencia subclase más común en los niños, mientras que la deficiencia de subclase IgG3 es la deficiencia que se observa con mayor frecuencia en adulto. La deficiencia IgG4 ocurre más frecuentemente asociada con la deficiencia IgG2. En la actualidad el significado de la deficiencia aislada o selectiva de IgG4 no es claro. La deficiencia de subclase IgG pueden estar acompañadas por deficiencia de IgA. La combinación de deficiencia de IgA con deficiencias de IgG2 e IgG4 se observa con frecuencia. Las deficiencias de IgG2 e IgG4 al igual que las deficiencias de IgA ocurren también en asociación con Ataxia Telangiectasia.

Muchos pacientes con deficiencia selectiva de subclase IgG2 o deficiencia de IgA e IgG2 no pueden producir niveles protectores de anticuerpos cuando son inmunizados con vacunas de polisacáridos conjugadas contra bacterias *Streptococo pneumoniae* o *Haemophilus influenzae*. Los pacientes con deficiencias de subclase IgG por lo general producen cantidades normales de anticuerpos contra vacunas de proteínas, tales como la difteria y tétanos en las vacunas de rutina DPT. Los pacientes con deficiencias de subclase IgG tienen cantidades normales de linfocitos B y T y sus linfocitos T funcionan normalmente cuando son examinados con pruebas de hipersensibilidad retrasada en piel o por pruebas de estimulación de linfocitos en laboratorios.

Las deficiencias de subclase IgG pueden persistir tanto en algunos niños como en adultos y en algunos casos una deficiencia selectiva subclase IgG puede evolucionar en Inmunodeficiencia común Variable. En la actualidad no es posible determinar cuáles pacientes tendrán el tipo transitorio de deficiencia de subclase y en cuales pacientes la deficiencia subclase será permanente o el antecesor de una inmunodeficiencia de mayor rango tal como la IDCV por estas razones, la reevaluación periódica de niveles de inmunoglobulinas y subclase IgG es necesaria. El tratamiento en estos pacientes pueden ser desde antibióticos profilácticos en pacientes que las infecciones y síntomas puedan ser controlados con esta terapéutica, en aquellos que no se logre control se deberá considerar el remplazo de gammaglobulina. El panorama para los pacientes con esta deficiencia es generalmente bueno. Muchos niños parecen sobrepasar la deficiencia al crecer. Para aquellos pacientes en los que la deficiencia persiste, el uso de antibióticos y en ciertas circunstancias, el uso de terapia de remplazo de gammaglobulina puede prevenir infecciones de importancia y el desarrollo de función pulmonar alterada, pérdida de audición o daño a otro sistema del organismo.

### **2.9.3 DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA POLISACÁRIDOS**

La deficiencia de anticuerpos contra polisacáridos se define como una deficiencia de estos anticuerpos, con concentraciones normales de Inmunoglobulinas y se reconoce como una forma de inmunodeficiencia primaria. El defecto característico que muestran estos pacientes es la imposibilidad de montar una respuesta de anticuerpos frente a antígenos polisacáridos. El 42% de las infecciones que sufren los pacientes con SAD

son neumonías causadas mayormente por el *S. Pneumoniae* y muchos de estos pacientes sufren de sinusitis recurrentes y/o infecciones pulmonares<sup>46</sup>. El diagnóstico de esta enfermedad se basa en gran parte en el desafío con la vacuna 23 Valente, que se utiliza como prototipo para evaluar la respuesta de anticuerpos frente antígenos polisacáridos.

Los títulos de anticuerpos se pueden medir fácilmente en suero antes y después de la inmunización y la ausencia de respuesta de anticuerpos luego de la misma, en presencia de niveles normales de inmunoglobulinas totales, el cual es criterio de SAD.

Este tipo de falla en la respuesta frente a neumococo puede hallarse asociado a otras inmunodeficiencias; incluso puede manifestarse como uno de los primeros síntomas en pacientes que más adelante se diagnostican con una inmunodeficiencia común variable<sup>47</sup>.

La inmunodeficiencia SAD suele diagnosticarse en niños, lo que puede estar asociado al desarrollo dependiente de la edad de los anticuerpos en contra de antígenos polisacáridos y otros componentes del sistema inmune siendo que como ya se ha mencionado, las respuestas deficientes a este tipo de patógenos son normales en niños menores de dos años de edad<sup>48</sup>.

En estos pacientes se han reportado anomalías presentando un menor porcentaje de LB de memoria y un mayor porcentaje de LB transicionales que los individuos sanos, características consecuentes con una maduración y diferenciación de células B alteradas<sup>49-50</sup>.

En los pacientes con SAD podrían existir defectos en la maduración dependiente de la edad de otros tipos celulares involucrados en la respuesta inmune requerida para la defensa frente al neumococo. Una de las características de la respuesta inmune frente al neumococo es la reacción inflamatoria intensa que involucra el aporte de macrófago del tejido pulmonar, seguida de una infiltración neutrofilica<sup>22</sup>. Pero la contribución de otras células del sistema inmune, además de los fagocitos es fundamental.

Las células NK participan como efectores de la inmunidad innata ejerciendo su función citotóxica directa sobre las células infectadas, pero también cumplen un rol fundamental en la modulación de la respuesta adaptativa mediante la liberación de citosinas, en conjunto con los macrófagos y las células dendríticas que dependiendo de cuál sea el estímulo antigénico, maduran de forma diferencial para modular la respuesta T perfil específica<sup>51</sup>.

La base molecular de esta enfermedad es aún desconocida y en los últimos años, el diagnóstico de la misma se ha dificultado con el uso creciente de vacunas conjugadas que incluyen antígenos proteicos. May *et al.*, en Alemania 1999<sup>52</sup>, encontraron niveles bajos de inmunoglobulinas en 22 de 245 pacientes con rinosinusitis crónica refractaria (17 deficiencia de subclases de IgG, 5 CVID, 3 SAD). Alqudah *et al.*, en Iowa 2010<sup>13</sup>, estudiaron 67 pacientes adultos con rinosinusitis crónica refractaria sometidos a drenaje endoscópico de senos paranasales, y encontraron: 1 paciente con CVID, 28 pacientes con pruebas cutáneas de alergia positivas, 11 pacientes con IgE elevada, y 67% de pacientes evaluados (34 de 51) con pobre respuesta de anticuerpos contra antígenos polisacáridos. En Teherán 2008, Aghamohammadi *et al.* investigaron a 103 pacientes adultos y niños referidos por ORL con historia de rinosinusitis crónica. Diecisiete pacientes (16.5%) tuvieron algún defecto de anticuerpos, incluyendo 4 con Deficiencia selectiva de IgA, 2 con CVID, 3 con deficiencia aislada de subclases de IgG, y 8 con SAD. En 1991, Shapiro *et al.* en Seattle<sup>35</sup> investigaron a 61 pacientes con sinusitis crónica referidos para evaluación de Alergias; encontraron 5 pacientes con

IgE elevada, 22 con pruebas cutáneas positivas, 11 pacientes con inmunoglobulinas bajas, y 17 con pobre respuesta a vacunas contra neumococo y *Haemophilus influenzae*. Carr *et al*<sup>5</sup> revisaron los expedientes de 129 pacientes adultos con rinosinusitis crónica, sometidos a cirugía endoscópica de senos paranasales en Chicago; encontraron 72% de pacientes con producción basal baja de anticuerpos contra neumococo. 15 pacientes (11.6%) fueron diagnosticados con SAD luego de vacunar y reevaluar. Vanlerberghe *et al* en Bélgica <sup>36</sup>, hicieron un estudio retrospectivo para evaluar los expedientes de 307 sujetos (261 adultos y 46 niños) con rinosinusitis refractaria; encontraron 67 pacientes (21.8%) con algún defecto de anticuerpos, incluyendo Deficiencia de IgA en 7 pacientes, Deficiencia de Subclases de IgG en 61, y 9 con defectos “combinados” de inmunoglobulinas.

Borges en el 2012 refiere que el 11.2% de la población sin infecciones de repetición fue diagnosticada con defecto de respuesta a polisacáridos. Kashani realizó una revisión de 2002 a 2009 de expedientes electrónicos, se incluyeron 239 pacientes quienes presentaban enfermedad nasosinusal persistente a pesar de tratamiento médico o quirúrgico e inmunoglobulinas normales; se evaluaron 14 serotipos. 56 pacientes (23%) contaron con diagnóstico de SAD. No se evaluó a nivel pulmonar ya que no todos los pacientes contaban con Radiografía ni tomografía. Este estudio sugiere que estos pacientes tienen una alta propensión de exacerbaciones infecciosas en comparación con los pacientes que responden adecuadamente. En este estudio fueron tratados por diferentes médicos, en un centro académico y se estudió en una clínica de alergia e inmunología, con referencia de pacientes con IDP<sup>55</sup>.

Fernández en el 2016 realizó un estudio descriptivo de 12 pacientes con SAD entre agosto 2007 y julio 2015, en los cuales tenían neumonías recurrentes en un 91.7% y otras infecciones respiratorias e invasivas, contaban con asma asociada y rinitis alérgica. El tratamiento con vacuna neumocócica fue favorable en 91.7% de los pacientes<sup>56</sup>.

Kesswani en el 2017 realizó una revisión de expedientes electrónicos, en donde evaluaron pacientes con RSC, con evaluación de inmunodeficiencia humoral con inmunoglobulinas y anticuerpos vs *streptococcus pneumoniae* antes y posterior a la vacunación. 239 pacientes de 595 pacientes contaban con criterios para SAD, de los cuales 35 pacientes tuvieron IDCV y 9 con deficiencia selectiva de IgA. Se reportó 24 pacientes (10%) con SAD severo, 120 SAD moderado y 95 SAD leve. Se reportó que los pacientes con SAD severo tenían menor FEV1; no se reportó evidencia de enfermedad pulmonar. En 144 pacientes se utilizó aplicación de gammaglobulina. Los pacientes con SAD moderado a severo cuentan con más eventos de neumonía, asma más severa, así como más uso cursos de antibióticos<sup>57</sup>.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Las inmunodeficiencias primarias (IDP) son sub-diagnosticadas en todo el mundo, incluso en centros de tercer nivel. Las IDP Humorales son las más frecuentes afectan las vías aéreas superiores e inferiores, su diagnóstico es tardío. La Rinosinusitis crónica es una enfermedad común de las vías respiratorias superiores que afecta del 5 al 16% de la población mundial, se estima que el 25% de estos pacientes no responden a tratamiento y tiene un impacto socioeconómico significativo. En virtud de que la SAD representa una falla al tratamiento por consiguiente daño pulmonar, resistencia antimicrobiana, y secundariamente gasto en salud pública.

### **4. HIPÓTESIS**

Dado el carácter descriptivo del estudio no se emite una hipótesis. Consideramos que al reportarse en la literatura 2 de cada 10 casos de RSC, la frecuencia en nuestra población sería similar, con los datos encontrados podemos generar un nuevo protocolo, no solo para estimar la frecuencia, sino las características inmunológicas de estos pacientes.

### **5. OBJETIVOS**

Determinar la frecuencia de deficiencia de Anticuerpos contra polisacáridos en pacientes con RSC, OMC y neumonía recurrente durante el periodo 2018-2020 en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratoria

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- 1) Determinar las características clínicas en este grupo de pacientes
- 2) Determinar cuáles son los Serotipos más prevalentes en este grupo de pacientes
- 3) Determinar el daño pulmonar en estos pacientes con pruebas de función respiratoria y Tomografía pulmonar.
- 4) Determinar las alteraciones de niveles de FeNO en este grupo de pacientes.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevara a cabo en los servicio de otorrinolaringología así como Neumopediatría del Instituto Nacional de enfermedades Respiratorias, se incluirán pacientes con neumonía recurrente, Otitis media crónica, Rinosinusitis crónica, en pacientes mexicanos de ambos géneros con edades entre 3 y 99 años. Debido a que es un estudio piloto en el INER- INP se van a incluir 100 pacientes

Paciente una vez incluido dentro del protocolo bajo consentimiento informado se le realizará una historia clínica para inmunodeficiencia (Anexo 1), inmunoglobulinas, biometría hemática, pruebas cutáneas, Espirometría u oscilometría, FeNO, tomografía de nariz y senos paranasales, y TACAR de tórax, así como muestras para la obtención de los niveles de anticuerpos contra polisacáridos basal y 4 semanas posterior

### Criterios de Inclusión:

Paciente con diagnostico confirmado de RC, OMC o neumonía recurrente

Pacientes que acepten ingresar al estudio y firmen consentimiento informado

Paciente que puedan realizar una Espirometría con grado de calidad A o B; en caso de pacientes menores 8 años de edad se tiene que realizar oscilometría.

Paciente que pueda realizar FeNO nasal

### Criterios de Exclusión

Pacientes que no acepten firmar el consentimiento informado o en su caso el asentimiento informado.

Paciente con rinosinusitis crónica ontogénica (paciente con sinusitis monoseno)

Paciente con Espirometría grado de calidad C

La tomografía de nariz y senos paranasales: Se utilizara para evaluar la severidad de la rinosinusitis crónica la clasificación de Lund-Mackay, el cual consiste en la evaluación de las imágenes de tomografía computada de los senos paranasales en la que cada grupo de senos paranasales se clasifican en:

0: si muestran ausencia completa de opacidad

1: si tienen opacidad parcial

2: cuando tienen opacidad total.

La suma de estos números en todos los senos paranasales (Maxilar, etmoides anterior, etmoides posterior, frontal, esfenoideas, complejo osteomeatal) resulta en un valor que varia entre 0-24

Oscilometría: Es una prueba de función respiratoria que permite evaluar la impedancia del sistema respiratorio a diferentes frecuencias de oscilación, se usa para la evaluación de menores de 5 años de edad. Las gráficas deberán ser aceptables y repetibles. Se utilizara el algoritmo propuesto por la Dra. Gochicoa-Rangel en el 2014

FeNO nasal: Se realizara bajo las recomendaciones de American Thoracic Society. El procedimiento consistirá utilizando dos olivas nasales con una luz central, el sujeto inserta una boquilla con resistencia espiratoria, inhala hasta una capacidad pulmonar total y luego exhala por vía oral mientras mantiene una presión bucal de 10 cm H<sup>2</sup>O, mientras se produce la exhalación oral se aspira aire a una velocidad de flujo de 3l/min a través de una oliva nasal, mientras que se proporciona una provisión de aire NO a través del la otra oliva. Bajo estas condiciones debe alcanzarse una meseta de los niveles de NO en menos de 20 segundos. Si no se obtiene dicha meseta a 3Lt/seg

pueden emplearse flujos mas elevados (3-6 l/seg). El flujo transnasal empleado para la recolección de datos debe de registrarse en cada medición de oxido nítrico nasal.

La tomografía computarizada de alta resolución de tórax fue evaluada por un médico neumólogo. Se utilizó la escala de Vande Ven A. Modificada y se determinó la presencia o ausencia de bronquiectasias, árbol en gemación, opacidades, imagen en vidrio despolido, nódulos pulmonares, quistes o bullas y atrapamiento aéreo con definiciones establecidas por Fleischner Society (Society for Thoracic Imaging and Diagnosis). Los datos fueron registrados en una hoja de captura (Anexo 2).

## PRUEBAS CUTANEAS.

Previa explicación al paciente de la técnica se realizó interrogatorio con el objetivo de conocer si existió ingesta de medicamentos que pudieran provocar falsos negativos. Los antihistamínicos anti H1 debieron suspenderse con diez días de anticipación así mismo anti H2 y antidepressivos tricíclicos con dos días, esteroides tópicos tres semanas antes de las pruebas y en el caso de los esteroides sistémicos un mes.

Se realizó asepsia de la cara anterior de antebrazos, inmediatamente se aplicó leve presión en esta región con punta roma, 15 minutos posterior a esta maniobra se evalúa la condición de dermografismo de estar ausente se procedió a marcar de manera lineal la piel transversalmente al eje del brazo con 3 cm de separación entre cada línea, en los extremos se aplicaron 43 alérgenos de la marca Alk-Abello (distribuidos de la siguiente manera: 16 árboles (Betulaverrucosa (Bv.), Ligustrum vulgare (Lv.), Cupresus arizonica, Acacia sp, Quercus rubra (Qr.), Eucaliptus, Western juniperus (Wj.), Schinus molle, Fraxinus americana (Fa.), Ulmus sp., Juglans sp, Platanus sp, Prosopis sp, Acer negundo, Casuarina esquistifolia, Populus sp. 11 pastos ( Holcus lanatus, Sorghum halapense, Dactylis glomerata, Lolium perenne, Phleum pratense, Agrostis alba, Anthoxanth humodoratum, Triticumaestivum, Cynodon dactylon, Hordeumvulgare, Bromuspratensis ). 7 malezas (Salsolakali, Taraxacum officinale, Artemisia vulgaris, Ambrosia trifida, Amaranthus retroflexus, Rumex crispus, Lambsquarter,), el resto de alérgenos fueron: Dermatophagoides pteronyssinus (Dpt.), mezcla 1:1 Dermatophagoides pteronyssinus y Dermatophagoides farinae (Df), mosquito, cucaracha y epitelio de gato, bovino, perro, caballo, conejo. Como control negativo se utilizó solución fisiológica 0.9% y clorhidrato de histamina (1:1000) como control positivo, todos los reactivos se aplicaron con lanceta de polipropileno tipo duotip, inmediatamente se retiró el exceso de alérgeno en la piel, los diámetros de la roncha se midieron 20 minutos después de la aplicación, con regla graduada en milímetros considerando positivas aquellas reacciones que midieron más de 3 mm comparadas con el diámetro de roncha provocada por el control negativo.

Procedimiento para realización de pruebas de anticuerpos contra polisacáridos.

Se tomarán muestras de 6 mL de sangre periférica por punción venosa usando el sistema Vacutainer® y se recolectarán en un tubo sin anticoagulante. Para obtener el suero las muestras se centrifugarán a 2000 rpm durante 20 minutos y se almacenará en alícuotas de 300 µL y se almacenarán a – 20°C hasta su análisis.

## Sensibilización de las placas para ELISA

Para sensibilizar las placas de ELISA se utilizarán 100 µL de una disolución 10 µg/mL de cada polisacárido por placa, las placas fueron tapadas con una película adhesiva transparente e incubadas por 4 horas a 37°C. Finalmente se almacenaron las placas sensibilizadas a 4°C hasta su uso.

## Bloqueo de las placas para ELISA

Después de decantar la disolución de recubrimiento de todas las placas, se agregaron 100  $\mu$ L de la disolución de bloqueo (PBS (pH 7.4, 0.01M, 25°C) / 3% leche en polvo libre de grasas) a cada pozo, se cubrieron y se incubaron durante 1 hora a 37°C.

## Preparación del suero estándar para las curvas de calibración

Para realizar las curvas estándar de cuantificación de cada serotipo se prepararon tres diluciones del suero estándar (STD): 1:300, 1:200 y 1:100 v/v usando como diluyente la disolución de bloqueo, y el STD debe complementarse con polisacárido C cuya concentración de trabajo es de 10  $\mu$ g/mL.

## Preparación de las muestras

Para preparar las muestras se descongelarán a temperatura ambiente y se dejarán reposar en estas condiciones durante 30 min. Se tomarán 12  $\mu$ L de cada muestra de suero y se colocarán en 3.6 mL de la disolución de bloqueo; esta disolución debe ser complementada con polisacárido C (10  $\mu$ g/mL) y 22 (30  $\mu$ g/mL).

## Ensayo de inmuoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

Después del bloqueo, las placas se lavan tres veces agregando 200  $\mu$ L de la disolución de lavado (PBS (pH 7.4, 0.01M, 25°C) / 0.05% Tween 20). Posteriormente se agregan 100  $\mu$ L de la disolución de la curva estándar o muestras y el duplicado (según corresponda).

Para cuantificar los anticuerpos dirigidos contra los polisacáridos 1, 3, 4, 5, 8 y 14, se empleará la dilución del STD 1:300, para los polisacáridos 6B, 11A, 18C, 19A y 23, la dilución 1:200 del STD y para los polisacáridos 6A, 9V y 19F la dilución 1:100. Finalmente se cubren las placas y se incubaron a 37°C durante 1:40h.

Terminada la incubación, se lavarán las placas con la disolución de lavado como se describió previamente y se agregarán 100  $\mu$ L a cada pozo de una dilución 1:5000 del anticuerpo de cabra-anti IgG humana conjugado con la enzima peroxidasa de rábano picante ([Santa cruz biotechnology, USA](http://www.santacruzbiotechnology.com)) diluido en la disolución de bloqueo, las placas se cubrirán e incubarán por 1:40h a 37°C.

A continuación se lavaron las placas nuevamente y se añadirán 100  $\mu$ L de sustrato, 3,3',5',5'-Tetrametilbencidina (TMB substrate, MP biomedical). Transcurridos 3 minutos esta reacción se detendrá agregando 50  $\mu$ L de una solución de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M. La placa se leerá utilizando el Espectrofotómetro para Microplacas Epoch - BioTek, ajustado a una longitud de onda igual a 450nm.

Las concentraciones de IgG se calcularon mediante la interpolación a la curva obtenida con el STD, del que se conocen las concentraciones de IgG frente a los polisacáridos capsulares estudiados.

## 7. RESULTADOS.

De los 72 pacientes reclutados, se evaluaron 11 por la presencia de la persistencia de la enfermedad nasosinusal o a nivel pulmonar a pesar del tratamiento médico o quirúrgico, los cuales tenían inmunoglobulinas cuantitativas normales. El número de títulos de anticuerpos antineumococicos pre inmunización fue protector (niveles superiores o iguales a 1.3mg/ml en al menos siete de los 14 serotipos evaluados) al inicio del estudio 8 pacientes (72.7%) (Línea base normal). El número de títulos de anticuerpos antineumococicos posteriores a la inmunización fue protector en 9 pacientes (respondedores) (81.8%). Dos pacientes fueron clasificados como no respondedores y tenían menos del 50% de los serotipos neumococicos mayores o iguales a 1.3mg/ml después de la inmunización con neumococo de 23 serotipos. De los que no respondieron todos habían recibido vacuna y se verificaron los títulos de pre inmunización. Los pacientes que no respondieron fueron diagnosticados posteriormente con SAD sobre la base de una respuesta inadecuada a una vacuna de polisacárido. No hubo diferencia en edad, sexo o raza en sujetos respondedores y sujetos basales normales.

Los pacientes contaban con algún proceso infeccioso ya sea sinusitis, otitis o neumonía, el inicio de sus síntomas con respecto al momento del diagnóstico, se observa que el retraso del diagnóstico es de 96 meses en promedio.

	Edad (años)	Genero	Edad presentación en meses	Edad dx en meses	Retraso en el	Sinusitis /año	Otitis/años	Diarrea/año	Neumonía/año
GBAA	37	F	360	444	84	5	1	0	0
GLI	33	F	288	324	36	1	0	0	1
DRM	34	F	312	408	96	4	0	0	0
NRG	39	M	420	468	48	3	0	0	0
POCA	33	M	360	396	36	3	0	0	0
MMC	27	F	240	324	84	3	0	0	0
PGNE	35	F	360	420	60	5	0	0	0
EBG	42	F	180	504	324	4	9	0	3
SRJ	17	M	24	204	180	2	0	1	2
FGI	29	M	288	336	48	3	0	0	0
MOED	42	F	444	504	60	2	1	0	2

Tabla 6. Características clínica de cada uno de los pacientes

Los pacientes con SAD tuvieron todos los títulos de los 14 serotipos menores de 1.3mg/ml antes de la inmunización, en comparación a los respondedores. Después de la inmunización, los sujetos con SAD en un paciente continuo sin respuesta a ninguno de los serotipos y el segundo paciente solo respondieron al 40% de los serotipos.

Posterior a la primera toma de anticuerpos basales, se les administró la vacuna de neumococo de 23 serotipos en la cara externa del brazo subcutánea, sin ninguna reacción adversa reportada y 4 semanas posterior se toma la segunda toma con la intención de valorar la modificaciones de estas cifras posterior a un estímulo por tal estimulación, los resultados se describe a continuación

Una vez obtenidos los resultados se realizó la comparación de las concentraciones basales contra las concentraciones a las 4 semanas posterior a un estímulo, observándose que solo 11 serotipos se observó el incremento de 4 veces el valor basal reportado, aunque se reporten como cifras protectoras mayor a 1.3mcg/ml, el resto de los resultados solo subieron 2 o 3 veces el valor basal, manteniendo anticuerpos protectores mayores a 1.3mcg/ml

	<i>s1</i> <i>Fold</i>	<i>s3</i> <i>fold</i>	<i>s4</i> <i>fold</i>	<i>s5</i> <i>fold</i>	<i>s8</i> <i>fold</i>	<i>s9</i> <i>fold</i>	<i>s12</i> <i>fold</i>	<i>s14</i> <i>fold</i>	<i>s19</i> <i>fold</i>	<i>s23</i> <i>fold</i>	<i>s26</i> <i>fold</i>	<i>s51</i> <i>fold</i>	<i>s56</i> <i>fold</i>	<i>s68</i> <i>fold</i>
GBAA	1.11	1.05	1.34	1.76	0.37	0.61	1.16	1.10	1.41	1.45	0.76	0.68	1.08	0.69
GLI	1.60	1.31	1.37	1.65	1.82	2.67	1.44	0.96	5.19	1.57	1.85	4.45	0.47	1.88
DRM	0.82	1.21	1.04	1.10	1.21	1.06	0.98	0.96	1.19	1.08	1.01	1.30	1.09	1.16
NRG	4.72	1.74	3.13	0.99	1.02	5.01	5.53	9.02	2.01	35.00	0.72	3.84	2.50	10.22
POCA	0.90	0.85	0.72	0.63	1.00	0.85	0.70	0.96	0.74	0.79	0.71	0.94	0.88	0.77
MMC	1.63	1.45	1.01	1.74	0.94	0.73	2.23	ND	1.36	3.74	1.85	0.75	1.09	1.73
PGNE	1.59	1.14	2.60	2.18	ND	1.85	3.75	1.06	1.66	4.92	3.24	8.04	1.34	ND
EBG	1.95	1.22	1.79	1.52	ND	1.70	2.06	2.02	1.59	1.18	1.80	2.66	1.43	ND
SRJ	1.09	0.88	0.83	1.21	ND	1.14	1.02	1.00	0.95	0.83	1.00	0.91	0.96	ND
FGI	0.93	0.95	5.83	1.11	0.91	0.69	0.72	1.02	0.80	0.96	0.90	0.72	0.88	1.03
MOED	ND	1.11	ND	ND	ND	ND	ND	ND						

Tabla 9. Numero de Incremento en cada uno de los pacientes de los anticuerpos contra polisacáridos.

Las anomalías radiográficas de pulmón se estudiaron mediante una tomografía de alta resolución. Un radiólogo de tórax verificó hallazgos anormales en las imágenes e incluyó atelectasia, bronquiectasias, derrame pleural, nódulos, consolidaciones, fibrosis e infiltrados lineales. Existe una diferencia significativa en pacientes respondedores los cuales cuentan con una historia positiva de neumonías en comparación con los no respondedores.

En los pacientes con SAD se observa que el 50% de los pacientes cuentan con una alteración en la función pulmonar, en comparación de los respondedores que reportan 6 de 9 pacientes con anomalías de la función pulmonar, que se correlaciona con algunas anomalías radiológicas pulmonares.

## 8. DISCUSIÓN.

Este estudio se realizó para caracterizar a los pacientes con infecciones de repetición (RSC, OMC, NR) con o sin SAD. De los 11 pacientes que se sometieron a evaluación para descartar SAD, dos de los 11 pacientes se consideraron con SAD en uno no respondió a ningún serotipo y el otro paciente solo respondió al 50% de los serotipos. Las anomalías en la tomografía pulmonar son igual de frecuentes en pacientes respondedores y no respondedores con cuadros de rinosinusitis crónica, otitis media crónica. Se refiere que en los pacientes con SAD cuentan con una mayor propensión a las exacerbaciones infecciosas que los pacientes respondedores; en nuestro estudio uno de los pacientes que no respondió solo tiene una escala de Luna Mackay de 2 en comparación con el grupo de respondedores que cuentan con una Rinosinusitis crónica, sin respuesta a tratamiento. Es muy importante comentar que es posible que la vacuna antineumocócica que se le administro con fines diagnóstico, tenga un beneficio terapéutico en algunos pacientes. No hubo diferencia significativa en los pacientes asmáticos respondedores y los no respondedores, diferentes estudios reportan que los pacientes asmáticos con SAD no son concluyente, se necesitan más estudios para confirmar el papel de asma en estos pacientes. La naturaleza de la relación entre asma y la infección bacteriana es un tema de gran interés dentro del campo. Se ha encontrado que los patrones microbianos de las vías respiratorias están alterados en pacientes con asma y la composición de la flora puede asociarse con hiperreactividad bronquial en estos pacientes. Específicamente en pacientes asmáticos puede enfrentar una mayor colonización por *Streptococcus Pneumoniae* y los pacientes con asma están en aumento del riesgo de infecciones neumocócica invasiva en comparación con aquellos sin asma. En la mayoría de los pacientes con SAD parece que les va bien sin el uso de Gammaglobulina y muy pocos puedan necesitar tal terapia para controlar su inmunodeficiencia. 69 A pesar de que la capsula polisacárido es el factor principal de virulencia e inhibe estéricamente la interacción entre los receptores fagocíticos CR3 y Fc gamma con los componentes iC3b y el componente Fc de la IgG respectivamente, se debe considerar alguna alteración de la respuesta innata, tal como alteración de los Toll receptor o células NK.

## **9. CONCLUSION**

En pacientes con Rinosinusitis crónica de difícil tratamiento hay que considerar la evaluación de inmunodeficiencias, la asociación de asma o rinitis alérgica asociada a rinosinusitis crónica que no responde a tratamiento habitual se tiene que tomar en cuenta el diagnóstico de Deficiencia de anticuerpos contra polisacáridos, el diagnóstico es complejo y requiere una valoración multidisciplinaria en estos pacientes para que no lleguen a daño pulmonar permanente.

## 10. Bibliografía

1. Ocampo, C. J. & Peters, A. T. Antibody deficiency in chronic rhinosinusitis: Epidemiology and burden of illness. *Am. J. Rhinol. Allergy***27**, 34–38 (2013).
2. Aghamohammadi, A. *et al.* Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. *Am. J. Otolaryngol.***29**, 385–392 (2008).
3. Conley, M. E., Notarangelo, L. D., Casanova, J., Ellen, M. & Mec, C. Definition of primary immunodeficiency in 2011 : a ‘ triologue ’ among friends. **1238**, 1–6 (2011).
4. Hammarström, L. Presentation to European Union (EU) Parliament. in *Karolinska Institute, Karolinska Univ. Hosp. Huddinge, Sweden* (2004).
5. Dahl, M., Tybjærg-hansen, A. & Schnohr, P. A Population-based Study of Morbidity and Mortality in Mannose-binding Lectin Deficiency. *J. Exp. Med.***199**, 1391–1399 (2004).
6. Cunningham-Rundles, C., Sidi, P., Estrella, L. & Doucette, J. Identifying undiagnosed primary immunodeficiency diseases in minority subjects by using computer sorting of diagnosis codes. *J. Allergy Clin. Immunol.***113**, 747–55 (2004).
7. Wang, L.-L. *et al.* Distribution and clinical features of primary immunodeficiency diseases in Chinese children (2004-2009). *J. Clin. Immunol.***31**, 297–308 (2011).
8. Fried, A. J. & Bonilla, F. a. Pathogenesis, diagnosis, and management of primary antibody deficiencies and infections. *Clin. Microbiol. Rev.***22**, 396–414 (2009).
9. Staines Boone, Tamara, A. *et al.* Gastric Adenocarcinoma in the Context of Xlinked Agammaglobulinemia. *J Clin Immunol* 10–13 (2013).  
doi:10.1007/s10875-013-9971-5
12. Ramos, S. D., Mukerji, S. & Pine, H. S. Tonsillectomy and adenoidectomy. *Pediatr. Clin. North Am.***60**, 793–807 (2013).
13. Alqudah, M., Graham, S. M. & Ballas, Z. K. High prevalence of humoral immunodeficiency patients with refractory chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol. Allergy***24**, 409–412 (2010).
14. Frieri, M. Good’s Syndrome, CVID, and Selective Antibody Deficiency in Patients with Chronic Rhinosinusitis. *Curr. Allergy Asthma Rep.***14**, (2014).  
73
15. Carr, T. F. *et al.* Characterization of specific antibody deficiency in adults with medically refractory chronic rhinosinusitis. *Am. J. Rhinol. Allergy***25**, 241–244 (2011).
16. Wall L *et al.* Specific Antibody Deficiency. *Immunol Allergy Clin N Am* 35,659-70 (2015)

17. Ruvinsky, R., Gentile, A., Regueira, M. & Corso, A. Infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*: estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia. *Children* **100**, (2002).
18. Zhang, Q et al. Low CD4 T cell immunity to pneumolysin is associated with nasopharyngeal carriage of pneumococci in children. *The Journal of Infectious Diseases* **195**, 1194-202 (2007)
19. Goldblatt D et al. Antibody responses to nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in adults: a longitudinal household study. *The Journal of Infectious Disease* **192**, 387-93 (2005)
20. Dagan R et al. Reduction of nasopharyngeal carriage of pneumococci during the second year of life by a heptavalent conjugate pneumococcal vaccine. *The Journal of Infectious Disease* **174**, 1271-8 (1996)
21. Lipsitch M et al. Are anticapsular antibodies the primary mechanism of protection against invasive pneumococcal disease? *PloS Medicine* **2** e15 (2005)
22. Kadioglu A & Andrew PW. The innate immune response to pneumococcal lung infection: the untold story. *Trends in Immunology* **25**, 143-149 (2004)
23. Olliver M, Hiew J, Mellroth P, Henriques-Normark B & Bergman P Human monocytes promote Th1 and Th17 responses to *Streptococcus pneumoniae*. *Infection and Immunity* **79**, 4210-7 (2011)
24. Hales BJ et al. IgE and IgG anti-house dust mite specificities in allergic disease. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* **118**,361-7 (2006)
25. Holt PG & Sly PD. Viral infections and atopy in asthma pathogenesis: new rationales for asthma prevention and treatment. *Nature Medicine* **18**, 726-735 (2012)
26. Boyle RJ, Le C, Balloch A & Tang M LK. The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children. *Clinical and experimental Immunology* **146**, 486-92 (2006)  
74
27. Jyonouchi H, Cui C, Geng L, Yin Z & Fitzgerald-Bocarsly P. Age-dependent changes in peripheral blood dendritic cell subset in normal children and children with specific polysaccharide antibody deficiency (SPAD). *European Journal of Pediatrics* **169**, 1233-9(2010)
28. Gupta S, Louis AG. Tolerance and autoimmunity in primary immunodeficiency disease: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol* **2013**; **45**(2):162-169-  
doi: 10.1007/s12016-012-8345-8
29. Notarangelo LD. Primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol.* **2010**; **125**(2 Suppl 2):S182-S194. doi:10.1016/j.jaci.2009.07.053.
30. Durandy A, Kracker S, Fischer A. Primary antibody deficiencies. *Nat Rev Immunol.* **2013**; **13**(7):519-533. doi:10.1038/nri3466.

- 31 Casanova J-L, Abel L. Primary immunodeficiencies: a field in its infancy. *Science*. 2007;317:617-619. doi:10.1126/science.1142963.
- 32 Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova J-L, et al. Primary Immunodeficiency Diseases: An Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. *Front Immunol*. 2014;5(April):1-33. doi:10.3389/fimmu.2014.00162.
- 33 Conley ME, Dobbs AK, Farmer DM, et al. Primary B cell immunodeficiencies: comparisons and contrasts. *Annu Rev Immunol*. 2009;27:199-227. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132649.
- 34 Modell V, Gee B, Lewis DB, et al. Global study of primary immunodeficiency diseases (PI)—diagnosis, treatment, and economic impact: an updated report from the Jeffrey Modell Foundation. *Immunol Res*. 2011;51:61-70. doi:10.1007/s12026-011-8241-y.
- 35 Taruscio D, Capozzoli F, Frank C. Rare diseases and orphan drugs. *Ann Ist Super Sanita*. 2011;47:83-93. doi:10.1111/j.1365-2125.2006.02617.x.
36. Mccusker C, Warrington R. Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2011;7(Suppl 1):1-8.
37. Lear S, Condliffe A. Respiratory infection and primary immune deficiency—what does the general physician need to know? *JR Coll Physicians Edinb*. 2014;(44):149-155. <http://www.rcpe.ac.uk/sites/default/files/condliffe.pdf>. Accessed September 20, 2014.
38. Bousfiha AA, Jeddane L, Ailal F, et al. Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought. *J Clin Immunol*. 2013;33(1):1-7. doi:10.1007/s10875-012-9751-7.
39. Woroniecka M, Ballow M. Office evaluation of children with recurrent infection. *Pediatr Clin North Am*. 2000;47(6):1211-1224. doi:10.1016/S0031-3955(05)70268-6.
40. Borte S, von Döbeln U, Hammarström L. Guidelines for newborn screening of primary immunodeficiency diseases. *Curr Opin Hematol*. 2013;20(1):48-54. doi:10.1097/MOH.0b013e32835a9130.
41. De Vries E, Alvarez Cardona a., Abdul Latiff a. H, et al. Patient-centred screening for primary immunodeficiency, a multi-stage diagnostic protocol designed for nonimmunologists: 2011 update. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(1):108-119. doi:10.1111/j.1365-2249.2011.04461.x.
42. Edgar D, Ehl S. ESID Registry - Working definitions for clinical diagnosis of PID. 2014:1-9.
- 43 Hampson FA, Chandra A, Sreaton NJ, et al. Respiratory disease in common variable immunodeficiency and other primary immunodeficiency disorders. *Clin Radiol*. 2012;67:587-595. doi:10.1016/j.crad.2011.10.028.
- 44 Jesenak M, Banovcin P, Jesenakova B, Babusikova E. Pulmonary manifestations of primary immunodeficiency disorders in children. *Front Pediatr*. 2014;2(July):77.

doi:10.3389/fped.2014.00077.

45. Haidopoulou K, Calder A, Jones A, Jaffe A, Sonnappa S. Bronchiectasis secondary to primary immunodeficiency in children: longitudinal changes in structure and function. *Pediatr Pulmonol.* 2009;44(7):669-675. doi:10.1002/ppul.21036.
46. Tuerlinckx D et al. Optimal assessment of the ability of children with recurrent respiratory tract infections to produce anti-polysaccharide antibodies. *Clinical and Experimental Immunology* 149, 295-302 (2007)
47. Al-Herz W & McGeady SJ. Antibody response in common variable immunodeficiency. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology.* Official Publication of American College of Allergy, Asthma & Immunology 90, 244-7 (2003)
48. Sorensen R U et al. Influence of age on the response to Streptococcus pneumoniae vaccine in patients with recurrent infection and normal immunoglobulin concentration. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 102, 215-21 (1998)
49. Alachkar H, Taubenheim N, Haeney M, Durandy A & Arkwright PD. Memory switched B cell percentage and not serum immunoglobulin concentration is associated with clinical complication in children and adults with specific antibody deficiency and common variable immunodeficiency. *Clinical Immunology* 120, 310-8 (2006)
50. Maratea M, Gaillard M, Carelli D & Bezrodnick L. Falla de respuesta a antígenos polisacáridos (FRPS): estudio fenotípico del comportamiento de linfocitos B (LB) LVI Reunion Científica de la Sociedad Argentina de Inmunología (2009)
51. Yokoyama WM, Kim S & French AR. The dynamic life of natural killer cells. *Annual Review of Immunology* 22, 405-29(2004)
52. May, a., Zielen, S., Von Ilberg, C. & Weber, a. Immunoglobulin deficiency and determination of pneumococcal antibody titers in patients with therapyrefractory recurrent rhinosinusitis. *Eur. Arch. Oto-Rhino-Laryngology* **256**, 445–449 (1999).
53. Shapiro, G. G., Virant, F. S., Furukawa, C. T., Pierson, W. E. & Bierman, C. W. Immune defects in patients with refractory sinusitis. *Pediatrics* **87**, 311–316 (1991).
54. Vanlerberghe, L., Joniau, S. & Jorissen, M. The prevalence of humoral immunodeficiency in refractory rhinosinusitis: a retrospective analysis. *BENT*, 161–166 (2006).
55. Kashani S, Carr TF et al. Clinical Characteristic of adults with chronic rhinosinusitis and specific antibody deficiency. *J. Allergy Clin Immunol Pract* 3(2):236-42 (2015)
56. Fernandez et al. Specific antibody deficiency. Primary immunodeficiency associated to respiratory allergy. *Rev. Chil Pediatr* 88 (2): 252-57 (2016)
57. Kesswani A et al. The clinical significance of Specific Antibody Deficiency (SAD) Severity in Chronic Rhinosinusitis (CRS). *J Allergy Clin Immunol Pract* 5(4):1105-1111 (2017)