



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE AVIDEZ DE
ANTICUERPOS CONTRA ANTÍGENOS POLISACÁRIDOS
DE NEUMOCOCO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
SOSPECHA DE DEFICIENCIA ESPECÍFICA DE
ANTICUERPOS”.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

CRISTINA ISABEL SOSA ITURBE



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Sonia Mayra Pérez Tapia.
VOCAL: Profesor: Mario Adán Moreno Eutimio.
SECRETARIO: Profesor: Edgar Alejandro Medina Torres.
1er. SUPLENTE: Profesor: Luis Ángel Flores Mejía.
2º SUPLENTE: Profesor: Octavio Castro Escamilla.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA (TORRE DE
INVESTIGACIÓN).**

ASESOR DEL TEMA:

EDGAR ALEJANDRO MEDINA TORRES

SUSTENTANTE (S):

CRISTINA ISABEL SOSA ITURBE

INDICE

| | |
|--|----|
| 👤 Lista de abreviaturas..... | 2 |
| 👤 Introducción | 3 |
| 👤 Marco teórico | 6 |
| Sistema inmunológico..... | 6 |
| ➤ Función y células que lo integran | 6 |
| ➤ Respuesta inmune innata y repuesta inmune adaptativa..... | 8 |
| ❖ Respuesta inmune celular y humoral..... | 9 |
| Antígenos y anticuerpos | 11 |
| ➤ Definición de antígeno y características de inmunogenicidad..... | 11 |
| ❖ Clasificación de antígenos por su naturaleza química y dependencia de células T..... | 11 |
| ❖ Respuesta inmune humoral a antígenos T-dependientes y T-independientes..... | 13 |
| ➤ Inmunoglobulinas/Anticuerpos | 14 |
| ❖ Definición, estructura y clases de inmunoglobulinas..... | 14 |
| ❖ Interacción antígeno-anticuerpo..... | 16 |
| • Afinidad y avidéz de un anticuerpo..... | 17 |
| Inmunodeficiencias..... | 19 |
| ➤ Inmunodeficiencias primarias..... | 19 |
| ➤ Inmunodeficiencia específica de anticuerpos contra antígenos polisacáridos | 21 |
| ➤ Definición y manifestaciones clínicas..... | 21 |
| ➤ Infecciones neumocócicas | 22 |
| ➤ Vacunas neumocócicas..... | 23 |
| ➤ Valoración de la inmunodeficiencia específica de anticuerpos | 24 |
| 👤 Justificación | 26 |
| 👤 Objetivos | 27 |
| 👤 Materiales y métodos | 28 |
| 👤 Resultados | 32 |
| 👤 Análisis de resultados | 45 |
| 👤 Conclusiones..... | 51 |
| 👤 Recomendaciones | 52 |
| 👤 Referencias..... | 53 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-------|--|
| BCR | Receptor de Células B |
| CPA | Célula Presentadora de Antígeno |
| CTH | Célula Troncal Hematopoyética |
| IA | Índice de Avidéz |
| IDP | Inmunodeficiencia Primaria |
| IFN | Interferón |
| PAMPs | Patrones Moleculares Asociados a Patógenos |
| PRR | Receptor de Reconocimiento de Patrones Moleculares Asociados a Patógenos |
| RI | Respuesta Inmune |
| RIA | Respuesta Inmune Adaptativa |
| RII | Respuesta Inmune Innata |
| SAD | Deficiencia Especifica de Anticuerpos |
| SI | Sistema Inmunológico |
| VCPn | Vacuna Conjugada de Polisacáridos de neumococo |
| VNCPn | Vacuna No Conjugada de Polisacáridos de neumococo |

INTRODUCCIÓN

Las inmunodeficiencias primarias (IDP) son un grupo de trastornos de origen genético del SI; originados por defectos en el desarrollo, maduración o función de las células del sistema inmune. Los pacientes con IDP tienen mayor susceptibilidad a infecciones que suelen ser recurrentes y difíciles de erradicar ¹.

La clasificación de las IDP se basa en el defecto inmunológico, siendo las características clínicas y las pruebas de laboratorio fundamentales para establecer la clasificación. Dentro de las IDP, las deficiencias de anticuerpos representan el 57% de las inmunodeficiencias registradas ².

La deficiencia específica de anticuerpos contra antígenos polisacáridos se conoce clínicamente como deficiencia específica de anticuerpos (*SAD, del inglés specific antibody deficiency*) y se define como una respuesta inadecuada de anticuerpos contra antígenos de tipo polisacáridos tras la administración de una vacuna no conjugada de polisacáridos de neumococo (VNCPn) ³.

La evaluación de esta respuesta consiste en aplicar al paciente la VNCPn y realizar la cuantificación de anticuerpos de clase IgG contra 14 antígenos polisacáridos. Un mes después de la aplicación de la vacuna es necesario cuantificar nuevamente las concentraciones de anticuerpos. Se comparan los valores de concentración de anticuerpos antes y después de la vacunación según la edad del paciente, si el paciente es menor de cinco años de edad y los resultados de cuantificación de anticuerpos son menores al valor de corte en el 50% de los serotipos analizados se hace el diagnóstico de SAD; y para el caso de los pacientes mayores de cinco años de edad se hace el diagnóstico de SAD cuando los resultados de cuantificación de anticuerpos son menores al valor de corte en el 70% de los serotipos analizados.

Clínicamente, SAD se caracteriza porque los pacientes tienen infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior o inferior como otitis, sinusitis, bronquitis o neumonía.

Una característica importante en las respuestas protectoras, además de una respuesta adecuada de anticuerpos contra su antígeno específico, es la fuerza de unión entre ellos. La avidéz indica esta fuerza entre todos los sitios de unión del anticuerpo con el antígeno. Una de las ventajas de las vacunas conjugadas de polisacáridos con las vacunas no conjugadas, es su capacidad de producir anticuerpos de avidéz más alta con un aumento de la actividad funcional ⁴.

Así, la administración de las dosis recomendadas en el esquema de vacunación de la vacuna conjugada contra neumococo (VCPn) y de la VNCPn para el diagnóstico de SAD, ha permitido estudiar la capacidad de síntesis de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos, así como determinar su índice de avidéz.

En este trabajo se recopilaron datos de 34 pacientes pediátricos con sospecha de SAD del Instituto Nacional de Pediatría, los datos incluían las manifestaciones clínicas, edad, sexo y número de VCPn que habían recibido al momento del estudio de acuerdo al esquema nacional de vacunación. En todos los casos se realizó la cuantificación de anticuerpos contra antígenos polisacáridos de neumococo para apoyar en el diagnóstico de SAD y se realizó la determinación del índice de avidéz para identificar a los pacientes con anticuerpos de alta avidéz.

Se identificaron 10 pacientes con SAD, de los cuales ninguno contaba con el esquema de vacunación completo. De los 10 pacientes, el 90% de ellos tenían más de 5 años de edad y el 60% eran de sexo masculino. Respecto a las principales manifestaciones clínicas encontradas en los pacientes con SAD fueron las infecciones de vías respiratorias superiores con 55%, seguida de neumonía y sinusitis con el 18% y 9% respectivamente.

El índice de avidéz en los pacientes con SAD tras la administración de la vacuna tuvo un incremento en todos los serotipos evaluados, sin embargo, ningún índice fue mayor a 0.5 lo que indicó que eran anticuerpos de avidéz baja. En contraste con los pacientes sin SAD, en los que se encontraron índices de avidéz mayores a 0.5 en 11 de los serotipos evaluados tras la administración de la vacuna, indicando que sus anticuerpos eran de avidéz alta.

Es importante resaltar que se identificó un caso en el grupo de los pacientes que no fueron diagnosticados con SAD que no había recibido ninguna dosis de la VCPn y en el que el IA estuvo

por debajo de 0.5 en la mayoría de los serotipos analizados a pesar de haber obtenido una buena respuesta de anticuerpos tras la administración de la VNCPn.

Los pacientes que fueron diagnosticados sin SAD y que tenían su esquema de vacunación completo (3 dosis de VCPn) fueron los que tuvieron un IA mayor o igual a 0.5, lo que indicó que sus anticuerpos eran de avidéz alta en todos los serotipos evaluados.

MARCO TEÓRICO

SISTEMA INMUNOLÓGICO

El SI es el responsable de la defensa del individuo ante cualquier agresión por patógenos, así como el responsable de mantener la integridad y homeostasis del organismo. Por medio de una serie de procesos se combaten y destruyen organismos infecciosos invasores antes de que causen daño. Cuando el sistema inmunológico está funcionando adecuadamente confiere una protección adecuada contra infecciones y enfermedades, sin embargo, cuando se presenta una falla, el organismo tiene problemas para combatir a los agentes patógenos y por ende se tiene una mala protección frente a las enfermedades ⁵.

Función y células que lo integran

El SI tiene una dualidad funcional, una función defensiva frente a los agentes extraños y una función de tolerancia frente a lo propio (tolerancia necesaria para evitar la autoinmunidad) ⁶.

La función defensiva frente a los agentes extraños es importante ya que el organismo está expuesto constantemente con una gran variedad de microorganismos infecciosos (bacterias, virus, parásitos, hongos). Las infecciones bacterianas del tracto respiratorio son causadas con mayor frecuencia por *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) y son de gran importancia ya que ocasionan infecciones en garganta, otitis, meningitis, neumonía, entre otras ⁷.

Para combatir estos microorganismos, el SI monta una respuesta inmunológica en donde actúan células leucocitarias de origen mieloide y de origen linfoide con características específicas.

Las células de origen mieloide comprenden a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos) y a los monocitos/macrófagos. Son producidas por un proceso llamado mielopoyesis que tiene lugar en la medula ósea, que a partir de una célula troncal hematopoyética (CTH) da origen a los progenitores mieloides comunes que subsecuentemente se pueden diferenciar a progenitores más específicos como los progenitores granulo-monocíticos, y a través de una serie de eventos

en donde grupos alternados de genes en asociación con diversos factores de crecimiento determinan el tipo de célula al que se diferenciará finalmente ⁸.

Las células de origen linfoide comprenden a los linfocitos B, linfocitos T y células NK. Son producidas por un proceso llamado linfopoyesis que al igual que la mielopoyesis es un proceso determinado por combinaciones de factores intrínsecos y microambientales que guían la diferenciación de progenitores linfoides a partir de las CTH, sin embargo, a diferencia de la mielopoyesis, en la linfopoyesis los linfocitos maduran en los órganos linfoides primarios (medula ósea y timo) y adquieren características que les permiten responder ante un antígeno extraño, en este sitio las células que actúan contra estructuras moleculares propias son eliminadas y sobreviven únicamente las que no lo hacen, a esto se le conoce como tolerancia central ⁹. En los órganos linfoides secundarios (bazo, ganglios linfáticos, placas de Peyer, tejido linfoide asociado a mucosas intestinal y bronquial: *MALT por sus siglas en inglés*) se lleva a cabo la activación de los linfocitos maduros, a través de la presentación o el contacto con el antígeno dando inicio a la respuesta inmune adaptativa con la posterior proliferación clonal y la generación de células de memoria.

El SI también cuenta con moléculas proteicas solubles en los líquidos corporales que ayudan a combatir agentes patógenos ¹⁰ (Tabla 1).

Tabla 1. Moléculas solubles del sistema inmunológico y su función principal

| PROTEINA | FUNCIÓN |
|---|---|
| Inmunoglobulinas (IgM, IgG, IgA, IgD, IgE) | Neutralizar toxinas, aglutinar o agregar microorganismos, opsonizar a las bacterias, activar la secuencia del complemento para actividad bacteriolítica ¹¹ . |
| | Quimiotaxis de neutrófilos y macrófagos. |
| | Actividad citolítica. |
| Proteínas del Complemento | Son proteínas plasmáticas capaces de ser activadas por la vía alterna, por determinadas estructuras microbianas, que una vez que entran en acción adquieren actividad enzimática, provocan la lisis de los microorganismos y liberan los péptidos que contribuyen a facilitar la fagocitosis, estimular la quimiotaxis y propiciar la inflamación ¹² . |

Citocinas

Participan en la diferenciación y maduración celular.

Regulan las respuestas inmunes mediante activación celular

Respuesta inmune innata y respuesta inmune adaptativa

El SI actúa para combatir a los agentes patógenos a los que estamos constantemente expuestos mediante la respuesta inmune innata y adaptativa. Si bien ambos tipos de respuesta comparten la misma función biológica, los mecanismos que emplean cada una de ellas difieren en algunos aspectos ⁶.

La respuesta inmune innata (RII) se caracteriza por ser una respuesta inmediata (Figura 1), ya que no requiere de mecanismos como presentación de antígeno o expansión clonal, actúa contra cualquier agente nocivo, es capaz de reconocer estructuras moleculares que comparten los microorganismos, estas estructuras son conocidas como “PAMPs”, para ello utiliza receptores proteicos llamados “PRR”, los cuales, se encuentran en varios tipos celulares como lo son macrófagos, neutrófilos, células cebadas, células dendríticas y células NK; estos PRR pueden estar localizados en la superficie celular o el endosoma ¹³. En un proceso infeccioso todos los componentes del microorganismo invasor son susceptibles de ser reconocidos por los PRR por lo que se confiere una ventaja al organismo, pues con un número pequeño de receptores se puede proteger frente a una gran cantidad de microorganismos patógenos. Sin embargo, una desventaja es que la respuesta inmune innata no varía la intensidad de la respuesta y aunque se repita la exposición a dicho agente patógeno no crea memoria inmunológica ¹⁴.

En contraste, la respuesta inmune adaptativa (RIA) es capaz de reconocer en forma específica una amplia gama de moléculas extrañas relacionadas o no con agentes microbianos. La estrategia utilizada en la inmunidad adaptativa para el reconocimiento de dichas moléculas es a través de una inmensa cantidad de receptores específicos para cada antígeno, estos receptores los generan los linfocitos T y B, y son el producto de reordenamientos genéticos complejos, por esto la RIA tiene la capacidad de generar un repertorio extremadamente amplio ¹⁵. La RIA requiere de varios días para que los linfocitos T y B reconozcan a los antígenos, se activen, diferencien y se

conviertan en células efectoras o de memoria (Figura 1); además es específica para el antígeno y reacciona solamente contra el organismo que indujo la respuesta. Finalmente, la RIA posee memoria inmunológica, es decir, recuerda que previamente se ha encontrado con un agente patógeno y reacciona de manera más rápida y eficiente a exposiciones subsecuentes contra el mismo antígeno ¹⁶.

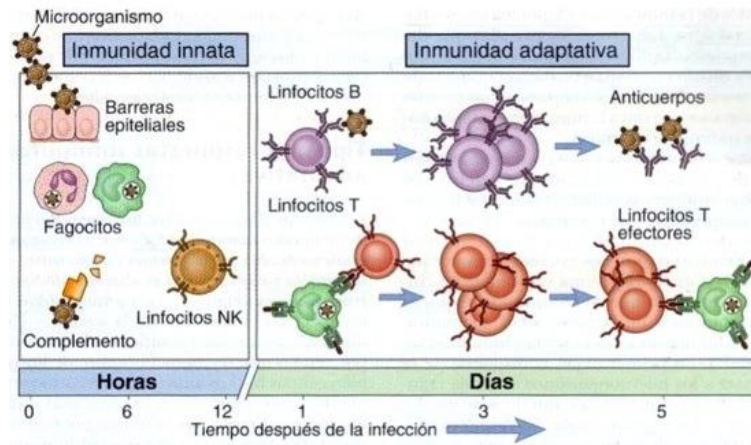


Figura 1. Inmunidad innata y adaptativa. Recuperado de Abbas, 6ª edición.

Respuesta inmune celular y humoral

La respuesta inmune innata y adaptativa a su vez están integradas por una respuesta inmune celular y humoral.

En la RII la respuesta inmune celular implica la participación de células fagocíticas como leucocitos polimorfonucleares, monocitos circulantes y macrófagos fijos en los tejidos. La respuesta inmune humoral está integrada por el sistema de complemento, interferon, TNF ¹⁷.

La RIA se desarrolla mediante la respuesta inmune celular donde los linfocitos T son las células fundamentales, y, la respuesta inmune humoral donde los linfocitos B juegan un papel preponderante ya que se diferencian a células plasmáticas y son las células efectoras para la producción de anticuerpos. Estas dos respuestas comienzan con la activación de los linfocitos en los órganos periféricos, causada por la célula presentadora de antígeno, que alcanza a estos órganos a través de la circulación linfática y desencadena las fases de reconocimiento, activación y efectora ^{14,18,19}.

1. Fase de reconocimiento: la respuesta inmune adaptativa se inicia en los nódulos linfáticos que drenan el sitio de infección, cuando las células T naive encuentran su antígeno específico. La presentación de antígeno esta mediada por las moléculas MCH de clase I y II, que se encuentran en las células presentadoras de antígeno (APC). Ambas moléculas tienen una función similar, la de presentar pequeños péptidos en la superficie para que sean reconocidos por linfocitos TCD8+ (citotóxicos) o TCD4+ (cooperadores) respectivamente. La diferencia radica en la procedencia del péptido: endógena o intracelular para MHC clase I; y exógena o extracelular para MHC clase II ¹⁴.

2. Fase de activación: en esta fase los linfocitos T se activan tras el reconocimiento específico del antígeno, y se producen dos cambios principales: proliferación y diferenciación linfocitaria a células efectoras. Los linfocitos T activados pueden tener dos destinos; migrar hacia el sitio de inflamación dirigidas por citocinas, donde realizan la actividad efectora de la inmunidad celular; o permanecer en el órgano linfático para participar en la inmunidad humoral activando a los linfocitos B antígeno específico. El tipo de respuesta que se genere estará determinado en gran parte por el ambiente de citocinas generadas desde la inmunidad innata y durante la presentación antigénica, esto determinará la expansión de células Th1 o Th2 (dirigidos a respuesta celular o humoral respectivamente) ²⁰.

El linfocito T CD4+ activa al linfocito B al liberar citocinas para la proliferación de las células B antígeno específico y su diferenciación a células B de memoria o células plasmáticas (células B efectoras). Las células de memoria permiten poder actuar de formas más rápida en futuros ataques frente al mismo antígeno.

3. Fase efectora: las células B efectoras sintetizan anticuerpos específicos contra el antígeno reconocido. Los anticuerpos al unirse al antígeno, pueden tener efectos como la neutralización de toxinas o de virus, la opsonización de bacterias que son recubiertas por anticuerpos para facilitar la fagocitosis, o la activación del sistema del complemento para erradicar al agente patógeno. Las células T efectoras son los linfocitos activadores de macrófagos y linfocitos T CD8+²⁰.

ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS

Definición de antígeno y características de inmunogenicidad

Los antígenos son moléculas susceptibles a ser reconocidas por el sistema inmunológico, existen moléculas denominadas haptenos que por sí solas no son capaces de generar una respuesta inmune ²¹.

No todos los antígenos son inmunógenos, la inmunogenicidad está asociada a un conjunto de condiciones que son necesarias para que un antígeno estimule la respuesta del sistema inmunológico y depende de la naturaleza química y complejidad del antígeno, peso molecular, solubilidad, vía de penetración y uso de adyuvantes ²². La inmunogenicidad aumenta cuando el antígeno es una molécula de peso molecular generalmente mayor a 100 kDa y de gran complejidad química (presencia de más de un aminoácido aromático) ²³.

Cuando un antígeno tiene múltiples determinantes antigénicos (epítomos) se dice que es un antígeno polivalente o multivalente. La mayoría de las proteínas globulares no son antígenos multivalentes, en cambio, en el caso de los polisacáridos y ácidos nucleicos al tener muchos epítomos idénticos espaciados regularmente se dice que son antígenos polivalentes.

Clasificación de antígenos por su naturaleza química y dependencia de células T

Los antígenos pueden ser clasificados de acuerdo a su naturaleza química o a su dependencia de células T para generar anticuerpos.

Los antígenos generalmente son de naturaleza peptídica, sin embargo, también son de tipo lipopolisacáridos, glucoproteínas y ácidos nucleicos. Las proteínas son los inmunógenos más potentes, seguidos por los polisacáridos; los lípidos y ácidos nucleicos, estos últimos debido a su baja complejidad estructural son poco inmunogénicos ²⁴.

Según la capacidad de un antígeno para estimular directamente la producción de anticuerpos sin la ayuda de células T se pueden clasificar en antígenos T-independientes o antígenos T-dependientes ²⁵.

Los antígenos T dependientes son los que requieren de la participación de los linfocitos T cooperadores (T CD4+) que liberan citocinas que inducen proliferación y diferenciación en los linfocitos B que generan la producción de anticuerpos específicos. La mayoría de los antígenos, sobre todo los de naturaleza proteica pertenecen a este tipo de antígenos T dependientes. La respuesta humoral a este tipo de antígenos con la coestimulación por parte de los linfocitos T CD4+ se caracteriza por inducir cambio de isotipo de las inmunoglobulinas de clase IgM a IgG y crear memoria inmunológica ²⁶.

Los antígenos T independientes son capaces de estimular a los linfocitos B directamente para producción de anticuerpos sin la ayuda de los linfocitos T cooperadores. Estos antígenos se localizan frecuentemente en la zona marginal de ganglios linfáticos y bazo donde son reconocidos por linfocitos B. Generalmente estos antígenos T independientes están compuestos de múltiples subunidades repetidas, como es el caso de polisacáridos bacterianos capsulares de *Streptococcus pneumoniae*²⁷ y *Haemophilus influenzae* entre otros. Estos antígenos por lo general son más resistentes a la degradación, de tal manera que persisten por periodos más largos de tiempo estimulando continuamente al SI pero son inmunógenos débiles en niños menores de dos años.

La inmunogenicidad de los antígenos T independientes se incrementa al transformarlos en antígenos T dependientes acoplado el antígeno a un acarreador o transportador proteico. Esta estrategia se utiliza en la fabricación de vacunas conjugadas, como la vacuna contra *Streptococcus pneumoniae* donde el polisacárido de importancia para la inmunización (T-independiente) se acopla a un acarreador proteico (T-dependiente) ²⁸.

Hay dos clases de antígenos T-independientes que están representados principalmente por antígenos polisacáridos capsulares de varios microorganismos ²⁹.

Antígenos T-independientes de clase 1, a altas concentraciones induce una activación policlonal de linfocitos B maduros e inmaduros independientemente de su especificidad. Generan una respuesta rápida, no generan memoria y son de carácter transitorio ²⁹. Las inmunoglobulinas predominantes son IgM e IgG₃.

Antígenos T-independientes de clase 2, son moléculas de alto peso molecular y con epítomos repetidos, inducen una respuesta específica por mecanismos de entrecruzamiento con el BCR. La

inmunoglobulina de superficie al unirse con epítomos repetidos activa a los linfocitos B maduros para su proliferación y secreción de IgM. Es importante señalar que la respuesta a este tipo de antígenos tampoco genera memoria; y que los antígenos polisacáridos pertenecen a esta clase de antígenos T-independientes ³⁰.

Respuesta inmune humoral a antígenos T-dependientes y T-independientes

La respuesta inmune humoral primaria es la que se desarrolla tras la exposición por primera vez frente a un antígeno y la respuesta secundaria se desarrolla tras exposiciones posteriores al mismo antígeno.

La respuesta primaria se produce fundamentalmente en los ganglios linfáticos y en el bazo. Durante esta respuesta, se producen linfocitos de memoria que recordarán la estructura del antígeno para posibles infecciones futuras. La respuesta secundaria se produce fundamentalmente en la médula ósea, seguida del bazo y ganglios linfáticos, es más rápida, más intensa, específica y tienen mayor duración, lo que pone de manifiesto la existencia de una memoria inmunológica ³¹.

La respuesta inmune humoral a antígenos T-dependientes se caracteriza por tener una concentración de IgM similar en la respuesta primaria como en la secundaria, pero la concentración de IgG es más alta en ésta última y se conserva durante más tiempo. Se crea memoria inmunológica ^{32,33}.

La respuesta inmune humoral a antígenos T-independiente se manifiesta por la inducción de anticuerpos de tipo IgM (Figura 2) y, en menor frecuencia IgG, y no presenta capacidad para inducir memoria inmunológica, por lo que el patrón de respuesta es igual tanto para la respuesta primaria como para la secundaria ³³.

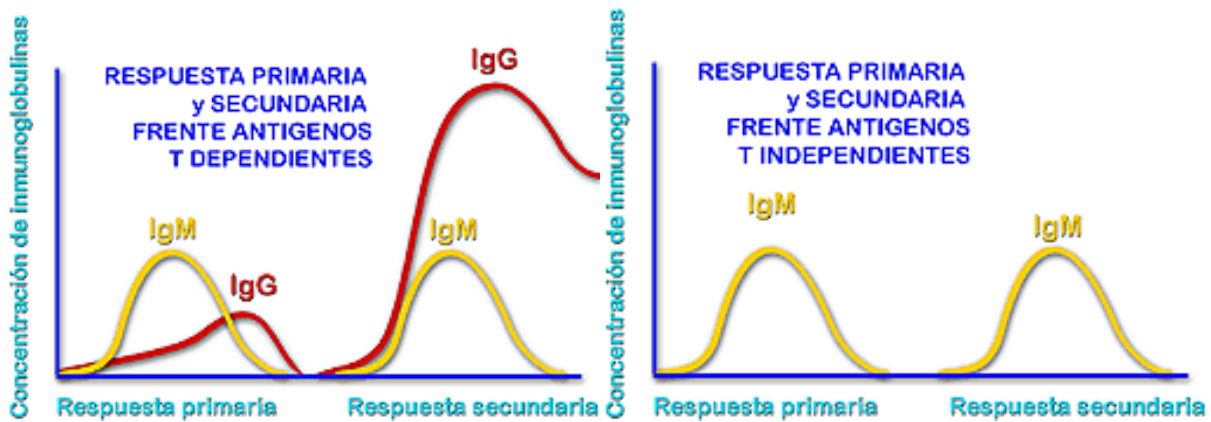


Figura 2. Niveles de inmunoglobulinas en la respuesta humoral frente antígenos T-dependientes y T-independientes, Recuperado de Cursos de Inmunología 2009: <http://apps.sanidadanimal.info/cursos/inmunologia/ca071.htm>

INMUNOGLOBULINAS/ANTICUERPOS

Definición, estructura y clases de inmunoglobulinas

Las inmunoglobulinas pueden actuar asociadas en la membrana de las células B, o en forma soluble denominadas anticuerpos. Las inmunoglobulinas son proteínas heterodiméricas formadas por cuatro cadenas unidas por puentes disulfuro, dos de ellas idénticas entre sí son cadenas ligeras (25 kDa) y las dos restantes son cadenas pesadas (50 kDa) de igual manera idénticas entre sí pero que contienen una pequeña región flexible que funciona como bisagra para variar la distancia entre los brazos de las inmunoglobulinas en presencia de un antígeno (Figura 3). Las cadenas pesadas cuentan con una región constante (Fc) la cual determina las funciones efectoras para que el antígeno sea removido del organismo, además cuentan con una región variable que, junto con la región variable de las cadenas ligeras, forma un dominio de reconocimiento específico y de unión con el antígeno (Fab) ³⁴.

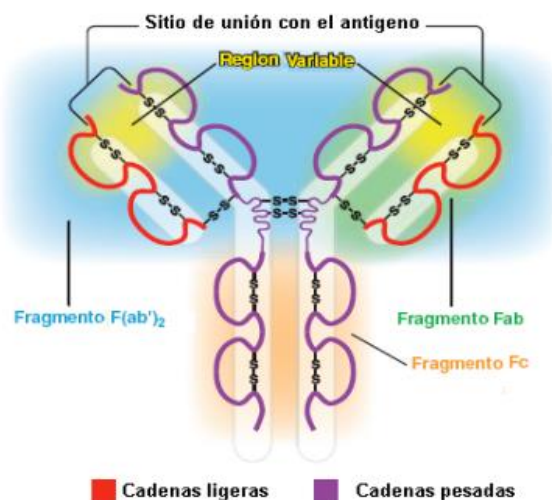


Figura 3. Estructura de un anticuerpo. Recuperada de: Schroeder HW, 2010.

Hay 5 clases de los dominios constantes de la cadena pesada ($\gamma, \alpha, \mu, \delta, \epsilon$). Cada clase de estos dominios define los isotipos de las inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE ^{35,36}.

La IgG es un monómero de la unidad básica de inmunoglobulina, es la de mayor concentración en el plasma sanguíneo (aproximadamente el 70%). Esta inmunoglobulina se divide en 4 subclases IgG₁, IgG₂, IgG₃ e IgG₄ cada una con diferentes propiedades biológicas. Por ejemplo, las subclases IgG₁ e IgG₃ son anticuerpos que reconocen antígenos dependientes de células T, tales como la toxina diftérica y tetánica. En contraste, los anticuerpos predominantemente de tipo IgG₂ reconocen antígenos polisacáridos contra la cápsula de polisacáridos de algunas bacterias como neumococo ³⁷. Los anticuerpos contra antígenos alérgeno-específicos son principalmente de tipo IgG₄ ³⁸.

La IgA es un dímero, está en baja concentración sérica y predomina en secreciones como la leche, saliva, lágrimas, sudor, etc. Se divide en dos subclases IgA₁ e IgA₂. La IgM es un pentámero, por lo que tiene la valencia más alta respecto a las demás inmunoglobulinas. La IgD e IgE son monómeros que están en muy baja concentración en el plasma sanguíneo (0.2-0.4%), sin embargo, la IgE aumenta de manera significativa en procesos de alergia o parasitosis ³⁹.

Interacción antígeno-anticuerpo

La unión entre antígeno y anticuerpo está dada por complementariedad espacial y por uniones no covalentes como puentes de hidrogeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas electrostáticas y fuerzas de Van der Waals; la porción del antígeno a la que se une la inmunoglobulina se denomina determinante antigénico o epítipo ⁴⁰.

Las reacciones antígeno-anticuerpo se distinguen en dos fases, la primera consiste en la unión del antígeno con el anticuerpo para formar los complejos inmunes primarios solubles, este proceso depende de la afinidad y concentración del anticuerpo y no depende de factores como pH y temperatura. La segunda fase consiste en las manifestaciones que resultan de dicha unión; en esta fase se da la agregación de los complejos inmunes formados en la primera fase, y además de la concentración de antígeno y anticuerpo, este proceso depende de la temperatura, pH y fuerza iónica; las principales manifestaciones de esta segunda fase son: la aglutinación, precipitación, neutralización, entre otros ⁴¹.

Hay que destacar que la reacción antígeno-anticuerpo se caracteriza por ser una interacción **específica, rápida, espontánea y reversible** ⁴².

ESPECÍFICA: Ya que los anticuerpos tienen la capacidad de distinguir entre dos antígenos de estructura similar.

RÁPIDA: Pues la velocidad en la que ocurre es del orden de segundos.

ESPONTÁNEA: Ya que no se requiere de energía ni catalizadores para que se lleva a cabo esta unión.

REVERSIBLE: Pues la unión se puede disociar con factores físicos o químicos tales como la temperatura, el pH o por sustancias desestabilizadoras como por ejemplo la urea, la cual es una sustancia que disocia la unión antígeno-anticuerpo desestabilizando las interacciones no covalentes de dicha unión.

Afinidad y avidéz de un anticuerpo

La afinidad describe la fuerza de unión entre un único sitio de reconocimiento del anticuerpo con un único epítopo de un antígeno ⁴³.

Los anticuerpos son proteínas que desarrollan una superficie complementaria a la forma que tienen los antígenos para unirse a ellos y neutralizarlos. Durante la respuesta inmunológica, esa forma va cambiando, de tal manera que puedan adaptarse cada vez más a la forma de un antígeno particular. A ese proceso se lo denomina maduración de la afinidad de los anticuerpos y resulta de la hipermutación somática en los genes de las inmunoglobulinas, seguida por una supervivencia selectiva de células B productoras de anticuerpos con alta afinidad ⁴⁴.

La hipermutación somática es un proceso que está restringido a las células B en los centros germinales, implica mutaciones puntuales e individuales que cambian un único aminoácido en las regiones V de los genes reordenados de las cadenas pesadas y ligeras, con una tasa muy elevada. Aquellas células B que produzcan anticuerpo con estructuras en el dominio V que se unan con mayor afinidad se convertirán en las células predominantes para exposiciones posteriores al antígeno, a este proceso se le llama selección clonal; este mecanismo genera anticuerpos de mayor afinidad a medida que progresa la respuesta inmune humoral ²².

Debido a la región bisagra de los anticuerpos que les da flexibilidad, un único anticuerpo puede conectar a un solo antígeno multivalente en más de un sitio de unión. Antígenos multivalentes tendrán más de una copia de un determinante antigénico particular, la afinidad de cualquier sitio de unión al antígeno será el mismo para cada epítopo de un antígeno multivalente, sin embargo, la fuerza total de unión del anticuerpo con el antígeno, debe tener en cuenta la unión de todos los sitios del anticuerpo (Fab) con los epítopos disponibles, a esta fuerza se le llama avidéz ²².

La avidéz de un anticuerpo indica la fuerza total de la interacción multivalente entre el anticuerpo y su antígeno, por lo tanto, una IgM pentamérica con diez sitios de unión al antígeno tiene mayor avidéz que una IgG dimérica con solo dos sitios de unión al mismo antígeno ⁴⁵.

La avidéz es una característica importante de las respuestas inmunes protectoras. De hecho, una de las ventajas de las vacunas conjugadas de polisacáridos con las no conjugadas es su capacidad de producir anticuerpos de más alta avidéz con un aumento de la actividad funcional. Así los

métodos que miden la avidéz son herramientas útiles en la evaluación de las respuestas inmunes producidas por vacunas conjugadas de polisacáridos ⁴⁶.

Un método común y eficiente para evaluar la avidéz de un anticuerpo contra un antígeno específico es un inmunoensayo ELISA de avidéz, el cual está basado en la disociación de complejos antígeno-anticuerpo utilizando un agente desestabilizador de las interacciones no covalentes de dicha unión. Los agentes más utilizados son el tiocianato de sodio y la urea. Al utilizar estos agentes, se disocia fácilmente la unión de los anticuerpos que poseen baja avidéz por su antígeno, mientras que los anticuerpos con alta avidéz no serán disociados y permanecerán unidos a su antígeno específico ⁴⁷.

El índice de avidéz (IA) es la proporción de anticuerpos que permanecieron unidos al antígeno específico después del tratamiento con el agente desestabilizador. Cuando el IA de IgG específica para antígenos polisacáridos de neumococo es menor a 0.40 se dice que los anticuerpos son de **baja avidéz**, si el IA se encuentra entre 0.40 y 0.49 los anticuerpos serán de **avidéz intermedia** y cuando el IA es mayor o igual a 0.50 se dice que los anticuerpos tienen **avidéz alta** ⁴⁸.

El IA se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{\textit{Titulo de anticuerpos tratados con urea}}{\textit{Titulo de anticuerpos tratados sin urea}}$$

INMUNODEFICIENCIAS

Las inmunodeficiencias son un grupo de enfermedades en donde existen defectos en uno ó más componentes del sistema inmune, teniendo como consecuencias alteraciones en el funcionamiento del SI que puede conducir a trastornos graves y a menudo mortales ⁴⁹.

Estas enfermedades están clasificadas en dos grupos. Las congénitas o inmunodeficiencias primarias son defectos congénitos que resultan en un aumento de la susceptibilidad del individuo a las infecciones que se manifiestan con frecuencia en la lactancia y la infancia, pero pueden ser detectadas en individuos mayores. Y las adquiridas o inmunodeficiencias secundarias se desarrollan como consecuencias de factores como la desnutrición, el cáncer, fármacos inmunosupresores o tras la infección por agentes virales ⁵⁰.

Inmunodeficiencias primarias

Las Inmunodeficiencias primarias (IDP) son trastornos de origen genético en las que existe una alteración cuantitativa y/o funcional de los diferentes mecanismos implicados en la respuesta inmunológica. Reflejan anormalidades en el desarrollo, maduración o función de las células del SI. Los pacientes con IDP tienen mayor riesgo de infecciones, alergias, enfermedades autoinmunes y neoplasias⁵¹. Se conoce el defecto molecular en la mayoría de ellas, aunque se siguen describiendo nuevos genes cuyas mutaciones originan inmunodeficiencia primaria, y nuevos fenotipos clínicos. Los avances en el conocimiento de los defectos moleculares y genéticos de las IDP han contribuido a una clasificación más completa, donde actualmente se reportan más de 200 IDP, siguiendo en aumento el número de éstas ⁵².

Las IDP afectan principalmente a hombres, aunque no es extraño encontrar a mujeres que presenten una IDP ⁵³.

Para establecer el diagnóstico de certeza de una IDP, se necesitan factores tales como una buena historia clínica y contar con un laboratorio de diagnóstico especializado ⁵⁴.

Los pacientes con IDP suelen tener una mayor susceptibilidad a infecciones por microorganismos patógenos incluso por microorganismos de la microbiota normal; dichas infecciones suelen ser recurrentes y difíciles de erradicar ⁵⁵. La mayoría de los pacientes con IDP presentan una o más de los siguientes patrones clínicos: retraso en el desarrollo, abscesos en hígado, pulmón o hueso; infecciones recurrentes por el mismo agente, enfermedad autoinmune o inflamatoria crónica ⁵⁶.

El desconocimiento de las IDP lleva frecuentemente a un mal diagnóstico o a un retraso en el mismo, lo que tiene impacto en el entorno social y económico del paciente, mismos que se pueden evitar realizando el diagnóstico temprano y ofreciendo el tratamiento oportuno, lo que mejora la calidad de vida de los pacientes afectados y sus familias.

La clasificación de las IDP se basa en el defecto inmunológico, siendo las características clínicas y las pruebas de laboratorio fundamentales para establecer la clasificación.

El grupo más común de inmunodeficiencias primarias es la deficiencia de anticuerpos, seguidas por las inmunodeficiencias asociadas a defectos del fagocito, las deficiencias de células T, las deficiencias por defectos del complemento, entre otras, con un 57%, 9%, 7% y 4% respectivamente ⁵⁷.

Las deficiencias de anticuerpos se caracterizan por la incapacidad de producir respuestas con inmunoglobulinas clínicamente efectivas. La consecuencia común final es la incapacidad de producir inmunidad humoral efectiva frente a patógenos invasores. Se pueden presentar en pacientes que tengan una reducción grave de todas las clases de inmunoglobulinas séricas y ausencia total de células B, o en pacientes que únicamente tienen deficiencia de anticuerpos contra un antígeno en específico, pero con el resto de las inmunoglobulinas séricas normales.

Se debe investigar la posibilidad de deficiencias primarias de anticuerpos en pacientes de cualquier edad con infecciones recurrentes (sobre todo en el tracto respiratorio inferior y superior), aquellos con infecciones en más de un sitio anatómico y aquellos con infecciones de una frecuencia o gravedad inusuales ⁵⁸.

Inmunodeficiencia específica de anticuerpos contra antígenos polisacáridos

Definición y manifestaciones clínicas

La deficiencia de anticuerpos contra antígenos polisacáridos se conoce clínicamente como deficiencia específica de anticuerpos (**SAD**, del inglés *specific antibody deficiency*) y se define como un problema en la respuesta de inmunoglobulinas (IgG) contra antígenos de tipo polisacáridos tras la administración de una vacuna de polisacáridos neumocócica no conjugada⁵⁹ (VNCPn). Hasta el momento su patogenia es desconocida, sin embargo, debido a que la capacidad para generar anticuerpos contra antígenos polisacáridos es más tardía en la infancia en comparación con los antígenos proteicos, se ha propuesto, que esta inmunodeficiencia específica de anticuerpos se debe a un proceso de maduración retardado o anormal de las células B de la zona marginal esplénica, pues los antígenos polisacáridos son concentrados y reconocidos por las células B en esta zona. Por lo que el desarrollo de estos anticuerpos contra antígenos polisacáridos es dependiente de la edad⁶⁰.

La capacidad de respuesta a los antígenos polisacáridos empieza a madurar a los 2 años de vida, antes de esta edad lo común es observar respuestas deficientes a estos antígenos ya que el SI todavía es inmaduro y no se logra una respuesta eficaz^{61,62}.

Clínicamente esta inmunodeficiencia se caracteriza por que los pacientes tienen infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior y/o inferior tales como otitis, sinusitis, bronquitis y neumonías. Algunos pacientes también pueden presentar asma, dermatitis y/o alergia.

Otra característica importante de esta inmunodeficiencia es que, en la mayoría de los casos, los pacientes no presentan alteraciones en los estudios de laboratorio, destacando niveles normales de inmunoglobulinas y las subclases de las mismas, con una respuesta normal a antígenos proteicos, pero con una disminución en la capacidad de respuesta frente a los antígenos polisacáridos⁶³.

SAD se presenta en población pediátrica generalmente entre los 2 y los 7 años de edad; se estima que el 60% de los pacientes afectados son varones.

Desde 1980, se han descrito pacientes con niveles normales de inmunoglobulinas que pueden presentar una deficiencia en la síntesis de anticuerpos para antígenos polisacáridos.

Infecciones neumocócicas

La infección recurrente constituye una causa frecuente de enfermedad, incapacidad y muerte para algunos individuos. Normalmente las infecciones recurrentes de vías respiratorias que tienen los pacientes con SAD son de tipo bacterianas causados por agentes encapsulados como es el caso de neumococo. Las infecciones neumocócicas son causadas por los diferentes serotipos de esta bacteria y se presentan con frecuencia en población pediátrica y geriátrica ⁶⁴.

Neumococo forma parte de la microbiota normal de la nasofaringe, sin embargo, puede causar enfermedades graves en algunos individuos; epidemiológicamente, es la bacteria que se aísla con mayor frecuencia en pacientes con infecciones bacterianas de vías respiratorias superiores, así como en otitis, neumonías y meningitis ⁶⁵. Cuando neumococo adquiere la cápsula de polisacáridos se vuelve patógena, ya que ésta estructura protege a la bacteria de las células fagocíticas mediante la inhibición del reconocimiento de opsoninas adheridas a la pared celular bacteriana ⁶⁶.

Existen más de 90 serotipos de neumococo, sin embargo, solo aproximadamente 26 de ellos son los que frecuentemente producen las infecciones neumocócicas ⁶⁷.

Las infecciones neumocócicas varían de leves a muy graves. Cerca de 2000 casos de enfermedades graves (bacteriemia, neumonía con bacteriemia y meningitis) ocurren cada año en niños menores de 5 años. Estas enfermedades pueden provocar discapacidades como sordera, daño cerebral o la pérdida de los brazos o las piernas. Alrededor de 1 de cada 15 niños que contraen meningitis neumocócica muere como consecuencia de la enfermedad ⁶⁸.

Vacunas neumocócicas

En la actualidad se disponen de vacunas antineumocócicas para prevenir las infecciones causadas por neumococo. Una de ellas es la vacuna neumocócica polisacárida no conjugada 23-valente aprobada por la FDA en 1992. En esta vacuna se encuentran representados el 90% de los serotipos que producen infecciones neumocócicas en la mayoría de los países. Los serotipos que se incluyen en esta vacuna son: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F⁶⁹.

El problema principal de esta vacuna no conjugada es que induce una respuesta inmunológica T-independiente, lo que hace que no produzca memoria inmunológica, por lo que su protección es poco duradera y solo es eficaz en niños con edades superiores a los 2 años y adultos mayores.

El hecho de que la vacuna de 23 serotipos sea poco eficiente en niños menores de dos años ha hecho que las investigaciones se dirijan hacia la obtención de un aumento de su inmunogenicidad mediante la conjugación de una proteína transportadora, consiguiendo así una respuesta inmunológica T-dependiente, con producción de células T y células B, que confiera memoria inmunológica.

Con las vacunas conjugadas ocurre inducción de la síntesis de IgM e IgG, en contraste con la producción única de IgM en el caso de la vacuna de 23 serotipos.

La vacuna conjugada aprobada para uso en niños a partir de los 2 meses de edad se caracteriza porque los polisacáridos purificados de neumococo son conjugados con una variante no dañina de la toxina diftérica (CRM 197)⁷⁰. Esta vacuna conjugada es 13-valente, los serotipos con los que consta son: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 1, 5, 7F, 3, 6A y 19A. En México esta vacuna se recomienda en un esquema que contempla su administración a los 2, 4 y 12 meses de edad⁷¹. La administración de estas dosis repetidas genera un incremento en la concentración y afinidad de los anticuerpos contra los antígenos polisacáridos.

La administración de las dosis correspondientes de la VCPn, así como la administración de la VNCPn 23-valente con productos capsulares de neumococo en la población pediátrica, ha permitido estudiar la capacidad de síntesis de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos para la identificar a pacientes que tengan SAD.

Valoración de la inmunodeficiencia específica de anticuerpos

Se han buscado parámetros que permitan predecir si un individuo está protegido frente algún agente patógeno, uno de los parámetros que mejor informa sobre este hecho es la concentración de anticuerpos frente al agente.

Como se mencionó anteriormente, los pacientes que presentan SAD con frecuencia tienen niveles normales de inmunoglobulinas y subclases, con una disminución en la capacidad de respuesta frente a los antígenos polisacáridos. Por lo que el diagnóstico diferencial se establece mediante la identificación de una respuesta deficiente de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos, para ello, es necesario hacer dos estudios de cuantificación de estos anticuerpos mediante un ensayo inmunoenzimático (*ELISA por sus siglas en inglés Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Cada estudio consiste en la toma de muestra de sangre periférica de cada paciente. La primera toma se realiza en el momento de la sospecha de la inmunodeficiencia (estudio pre-vacunación), y la segunda toma se realiza 30 días después de que se administra la VNCPn 23 valente (estudio post-vacunación).

Se deben considerar la edad y la concentración de anticuerpos, que son dos aspectos de importancia en la evaluación de esta inmunodeficiencia.

✨ Hay dos criterios para la evaluación de una respuesta adecuada contra antígenos polisacáridos basados en la concentración de anticuerpos ⁷².

- 1) El primer criterio es que la concentración de anticuerpos debe ser igual o mayor a 1.3 µg/mL independientemente si se trata del estudio en condiciones pre-vacunación o post-vacunación.
- 2) El otro criterio es considerar si se trata del estudio pre-vacunación o post-vacunación, en donde la concentración de anticuerpos de ser menor a 1.3 µg/mL en el estudio pre-vacunación deberá de incrementar por lo menos 4 veces la concentración encontrada en el estudio post-vacunación. De ser mayor la concentración de anticuerpos a 1.3 µg/mL en el estudio pre-vacunación deberá de haber un incremento de por lo menos 2 veces de la concentración en el estudio post-vacunación.

✳ Se consideran dos grupos etarios para la valorar la capacidad de respuesta a antígenos polisacáridos ⁷³.

- 1) Si el paciente tiene de 2 a 5 años de edad debe responder al 50% de los serotipos evaluados según los criterios antes mencionados.
- 2) Si el paciente tiene más de 5 años de edad debe responder al 70% de los serotipos evaluados según los criterios antes mencionados.

En caso de que no se observe respuesta al reto antigénico según los criterios antes descritos, el paciente se diagnóstica con SAD. A estos pacientes, se les debe dar tratamiento profiláctico con antibióticos, aunque, recientemente la terapia de sustitución de inmunoglobulinas se ha vuelto el tratamiento definitivo para los pacientes con SAD, en los casos tratados, las infecciones se suelen mantener bajo control, no obstante, el seguimiento de los pacientes debe ser preciso y continuo.

JUSTIFICACIÓN

Para establecer el diagnóstico confirmatorio de una inmunodeficiencia primaria, se necesita un buen historial clínico, y contar con un laboratorio de diagnóstico especializado. En México, la Unidad de Investigación de Inmunodeficiencias del Instituto Nacional de Pediatría es uno de estos centros especializados.

Se desconoce la incidencia de SAD y como las principales manifestaciones clínicas son las infecciones recurrentes del tracto respiratorio y una disminución en la capacidad de respuesta frente a antígenos polisacáridos, es frecuente que de primera instancia no se sospeche de SAD y se deje sin el tratamiento oportuno y requerido al paciente afectado por esta inmunodeficiencia.

Para realizar el diagnóstico preciso y oportuno, es de vital importancia determinar si dichos anticuerpos confieren o no una protección adecuada frente a los antígenos polisacáridos. El índice de avidéz se considera como una medida de la actividad funcional y por ende una avidéz alta de los anticuerpos es un indicador relevante para caracterizar la respuesta inmune de los pacientes con sospecha de SAD.

La caracterización detallada de los aspectos de la respuesta inmunológica de los pacientes con SAD y las diferencias con los pacientes con defectos transitorios en este tipo de respuesta, aunado a un adecuado registro de los datos clínicos y el seguimiento de cada uno de los casos permiten estudiar este tipo de enfermedades, desarrollar estrategias de diagnóstico y diseñar algoritmos de abordaje diagnóstico que puedan emplearse en todos los niveles de atención, lo que permitirá ofrecer diagnósticos oportunos con lo que se mejorará la calidad de vida de estos pacientes y sus familias.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Determinar el índice de avidéz de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos de 14 serotipos de neumococo en pacientes pediátricos con sospecha de deficiencia específica de anticuerpos.

Objetivos particulares

- ✓ Generar una base de datos para identificar la edad, sexo y manifestaciones clínicas de los pacientes pediátricos con sospecha de deficiencia específica de anticuerpos que solicitan la cuantificación de anticuerpos contra antígenos polisacáridos.
- ✓ Determinar la concentración de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos de 14 serotipos de neumococo para apoyar en el diagnóstico de pacientes con deficiencia específica de anticuerpos.
- ✓ Realizar un ensayo que permita evaluar el índice de avidéz de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos de neumococo en los pacientes pediátricos tras la administración de la vacuna no conjugada neumocócica.
- ✓ Comparar el índice de avidéz entre los pacientes con deficiencia específica de anticuerpos y los pacientes sin esta inmunodeficiencia.
- ✓ Identificar a los pacientes que tengan anticuerpos con mayor índice de avidéz en relación con el número de dosis de vacuna conjugada neumocócica con las que cuentan según su cartilla de vacunación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio y base de datos

A partir del análisis retrospectivo de los datos, se generó una base con la información de 34 pacientes pediátricos que solicitaron el estudio de cuantificación de anticuerpos contra antígenos polisacáridos de neumococo durante el periodo de Marzo de 2014 a Enero de 2015 en el Instituto Nacional de Pediatría. Esta base de datos incluía la edad, sexo, manifestaciones clínicas y número de dosis de la vacuna conjugada neumocócica con el que contaba cada paciente en el momento de realizar el estudio de cuantificación de anticuerpos.

Obtención de muestras

De los 34 pacientes pediátricos se recolectaron 68 muestras de sangre periférica por punción venosa en las condiciones pre-vacunación y post-vacunación de cada paciente (condiciones descritas anteriormente en el marco teórico, apartado de valoración de la inmunodeficiencia específica de anticuerpos).

Las muestras de sangre periférica recolectadas en tubos Vacutainer® fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos para obtener el suero; se hicieron alícuotas de aproximadamente 200 µL del suero y se almacenaron a -20°C hasta su posterior uso.

ELISA y ELISA de Aidez

La cuantificación de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos de 14 serotipos de neumococo se determinó mediante un ensayo de ELISA Indirecto de tercera generación⁷⁴, este ensayo implica una doble preabsorción usando polisacárido-C que es común en todos los serotipos de neumococo, y el serotipo 22F para evitar reacciones cruzadas; de esta manera se gana especificidad en este ensayo al eliminar los anticuerpos no específicos.

Para la determinación del índice de aidez de los anticuerpos se realizó un paso adicional al ensayo anterior, donde las muestras fueron tratadas con urea 6 M.

Los 14 serotipos de neumococo que se evaluaron fueron: 1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 8, 9V, 11A, 14, 18C, 19A, 19F y 23.

El ensayo de ELISA se comenzó al sensibilizar las placas de 96 pozos, para lo cual se prepararon disoluciones de 10 µg/mL de cada uno de los 14 serotipos de neumococo usados en el estudio y se colocaron 100 µL de la disolución del serotipo correspondiente en cada pozo de la placa, usando una placa por cada serotipo en estudio. Se dejaron incubar durante 2 horas a 37°C y al término de la incubación las placas se almacenaron a 4°C hasta el día siguiente.

Posteriormente se retiró la disolución de polisacáridos de las placas y se agregaron 200 µL de disolución de bloqueo (PBS 1X + Leche 3%) a cada pozo, después las placas se incubaron a 4°C durante toda la noche.

Se prepararon diluciones 1:300*, 1:600* o 1:1200* del suero de cada paciente (anticuerpo primario) y fueron preadsorbidos con el polisacárido-C y el serotipo 22F, ambos en una concentración de 10 mg/mL y se dejaron durante toda la noche a 4°C.

**La cuantificación de anticuerpos de estos pacientes ya habían sido determinada anteriormente, por lo que se pudo realizar un análisis para determinar la dilución del suero a la cual la concentración de anticuerpos se encontraría dentro de la curva de calibración.*

Para las curvas de calibración del ensayo, se realizaron diluciones 1:300, 1:200 y 1:100 del suero estándar aprobado por la FDA (*por sus siglas en ingles Food and Drug Administration*) y también fueron preadsorbidos con polisacárido-C a 10 mg/mL durante toda la noche a 4°C⁴⁰. La dilución del suero estándar utilizada para cada serotipo evaluado fue con la que se obtenía una mejor correlación lineal en la curva de calibración.

Dilución 1:300 para los serotipos 1, 4, 14, 18C y 19A.

Dilución 1:200 para los serotipos 3, 5, 8, 6B, 11A y 23.

Dilución 1:100 para los serotipos 6A, 9V y 19F.

Al día siguiente, se retiró la disolución de bloqueo y se lavaron las placas 3 veces agregando a cada pozo 200 µL de solución de lavado (PBS 1X + Tween 20 al 0.05%) y se agregaron por

duplicado 100 µL de la dilución del suero del paciente a los pozos correspondientes para cada serotipo evaluado (Ver Esquema 1).

Las curvas de calibración se realizaron por duplicado, se agregaron 200 µL en el primer pozo de la placa y se hicieron diluciones seriadas 1:2 de cada una de las diluciones del suero estándar empleadas para este ensayo, se incubaron las placas durante 90 minutos a 37°C, al finalizar la incubación, se lavaron las placas como se describió previamente.

Para el ensayo de avidéz, al término de los lavados, a las muestras correspondientes de los pacientes se le adicionaron 100µL de solución de UREA 6M y al resto de los pozos, así como a los pozos de la curva de calibración se agregaron 100 µL de PBS 1X (Ver esquema 1). Se incubaron las placas a 37°C durante 30 minutos. Al finalizar la incubación las placas fueron lavadas nuevamente.

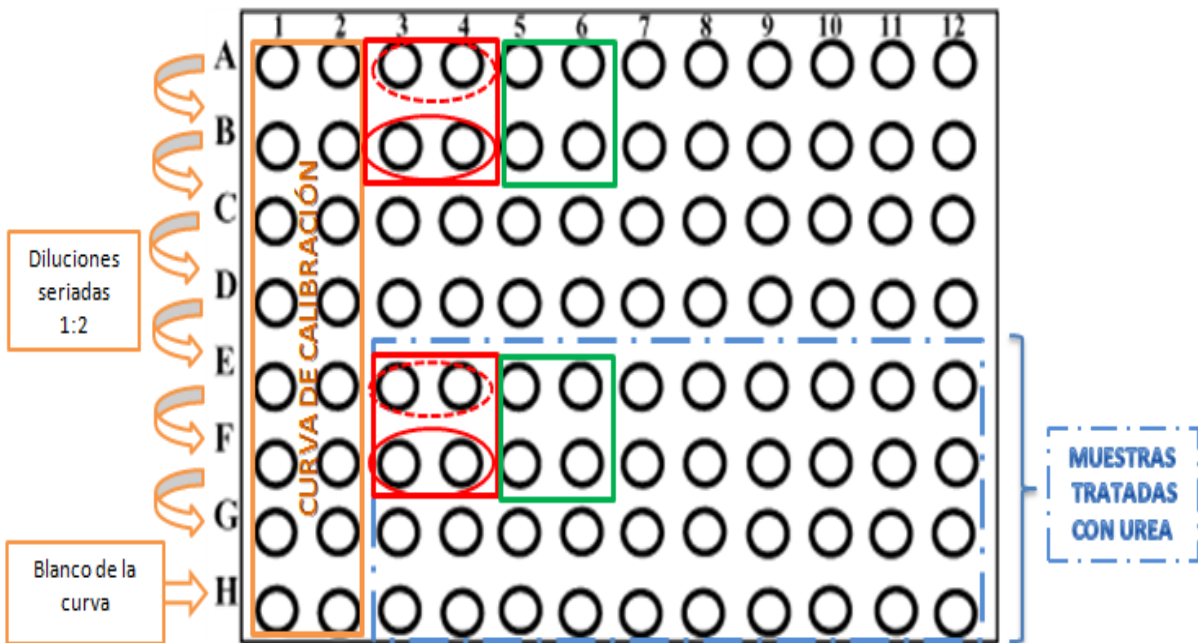
Posteriormente se añadieron 100 µL de una dilución 1:5000 del anticuerpo secundario (IgG anti-humano acoplado a peroxidasa de rábano) a cada pozo y las placas se incubaron a 37°C durante 90 minutos.

Finalmente, para revelar las placas se lavaron nuevamente las placas como se describió previamente y se adicionaron 100 µL de sustrato (TMB: tetrametil bencidina) a cada pozo y se dejaron incubar durante 3 minutos a temperatura ambiente. Para detener la reacción enzimática se agregaron 50 µL de H₂SO₄ 2M a cada pozo.

Las placas se leyeron a 450 nm en un espectrofotómetro y con los resultados obtenidos se trazaron las curvas de calibración y se determinaron las concentraciones de anticuerpos contra cada serotipo en evaluación.

El índice de avidéz se calculó para todas las muestras en el estudio de pre-vacunación y post-vacunación empleando la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{\textit{Titulo de anticuerpos tratados con urea}}{\textit{Titulo de anticuerpos tratados sin urea}}$$



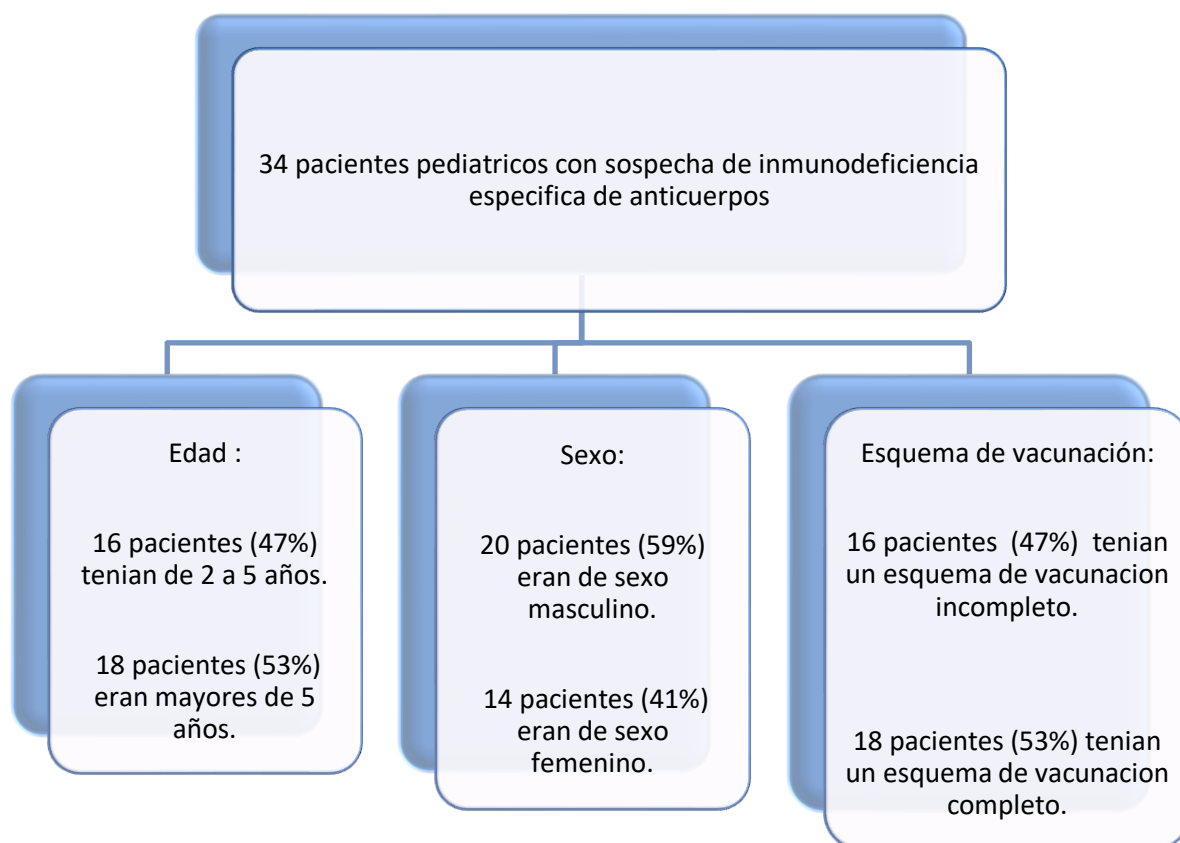
Esquema 1. Esquema de la distribución de las muestras de los pacientes en la placa de ELISA para cada serotipo evaluado, se muestra que la primera columna de la placa corresponde a la curva de calibración y su duplicado. El cuadro rojo corresponde a las muestras de suero de un paciente, el ovalo de línea punteada corresponde a la muestra en condiciones pre-vacunación y el ovalo de línea continua en condiciones post-vacunación. El cuadro verde corresponde a otro paciente y así sucesivamente hasta ocupar toda la placa. El cuadro azul representa las muestras que fueron tratadas con urea para la determinación del índice de avidéz.

👤 RESULTADOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO Y ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE LOS DATOS

En el Esquema 2-A se muestra que de los 34 pacientes pediátricos a los que se les realizó el estudio:

- 53% eran mayores de cinco años de edad.
- 59% eran de sexo masculino.
- 47% contaban con el esquema de vacunación contra neumococo completo, es decir, tenían las 3 dosis de la VCPn.



Esquema 2-A. Características de los pacientes de estudio con sospecha de inmunodeficiencia específica de anticuerpos

En la Figura 4 se muestra que, de los 34 pacientes analizados, 10 de ellos (29%) tuvieron concentraciones de anticuerpos contra antígenos polisacáridos por debajo del valor de corte en al menos el 60% de los serotipos evaluados tras la administración de la VNCPn, por lo que fueron diagnosticados como pacientes con SAD. Los pacientes restantes tuvieron concentraciones protectoras de anticuerpos.

De los pacientes que fueron diagnosticados con SAD, ninguno tenía el esquema de vacunación contra neumococo completo.

De los pacientes sin SAD, 18 (75%) tenían el esquema de vacunación completo (2 pacientes tenían 4 dosis de VCPn) y 6 pacientes (25%) tenían incompleto el esquema, dentro de este último grupo de pacientes, 2 pacientes tenían cero dosis de vacunas, 2 pacientes una dosis y 2 pacientes dos dosis.

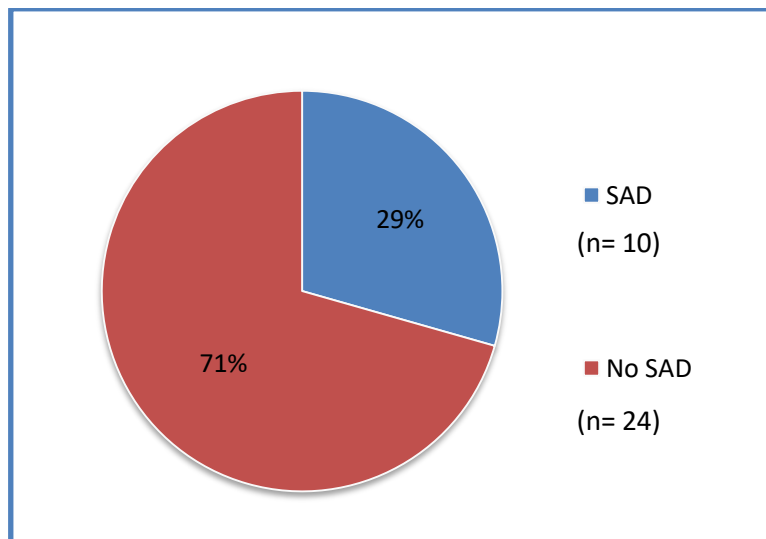


Figura 4. Distribución de los pacientes pediátricos que fueron diagnosticados con deficiencia específica de anticuerpos. (n=34)

Todos los pacientes que fueron diagnosticados con SAD tenían su esquema de vacunación incompleto, en la Figura 5 se muestra la distribución del número de dosis de vacuna conjugada que tenían estos pacientes cuando se les realizó el estudio de cuantificación de anticuerpos contra antígenos polisacáridos de neumococo.

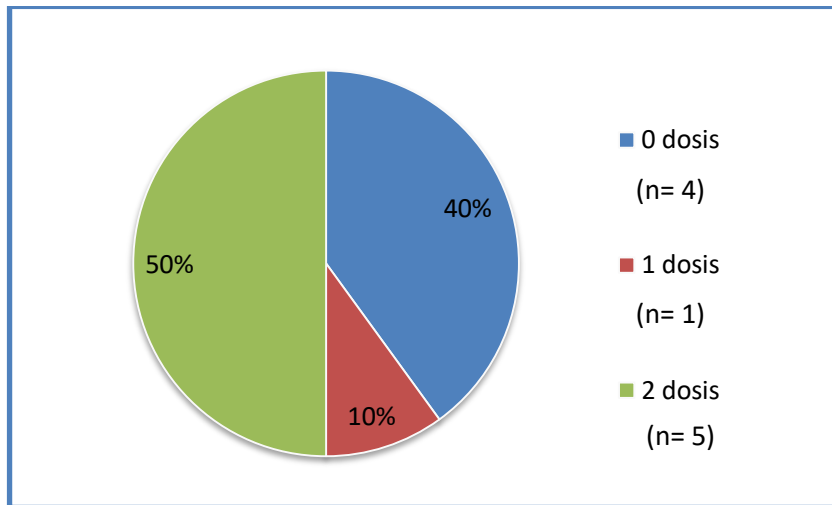


Figura 5. Distribución del número de dosis de vacuna conjugada neumocócica con las que contaban los pacientes (n=10) con deficiencia específica de anticuerpo en su esquema de vacunación.

De los 10 pacientes con SAD, se encontró que la mayoría eran pacientes mayores de cinco años de edad y de sexo masculino, con un 90% y 60% respectivamente (Figura 6).

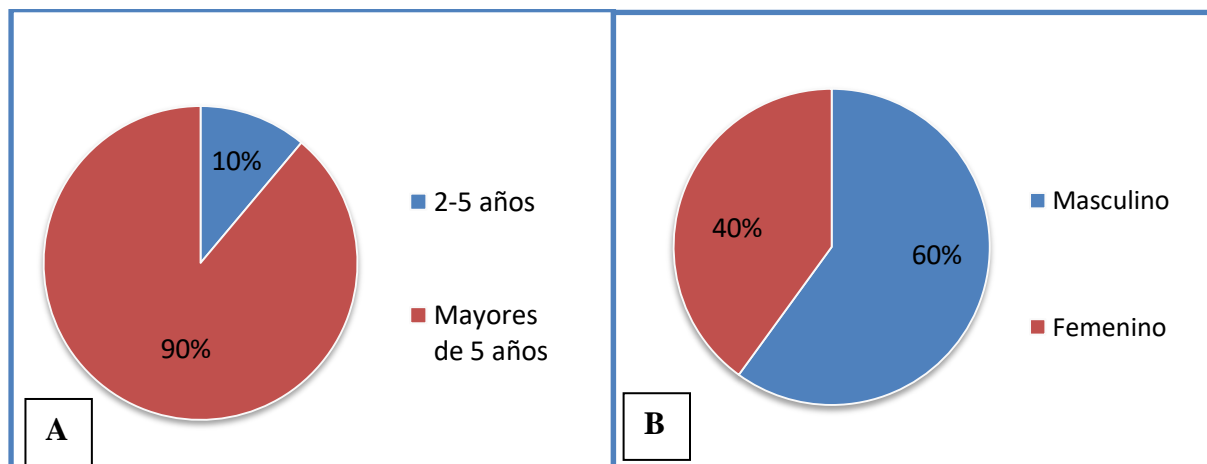


Figura 6. Distribución de la edad (6-A) y el sexo (6-B) de los 10 pacientes con deficiencia específica de anticuerpos.

En la Figura 7 se muestra la distribución de las diferentes manifestaciones clínicas que los 34 pacientes tenían al momento de la sospecha de la inmunodeficiencia específica de anticuerpos. Destacando que las infecciones de vías respiratorias fueron las más frecuentes, seguidas de neumonía y sinusitis. Los pacientes también llegaron a presentar otras manifestaciones entre las

cuales se encontraban la alergia, supuración pulmonar, inmunodeficiencia común variable y desnutrición.

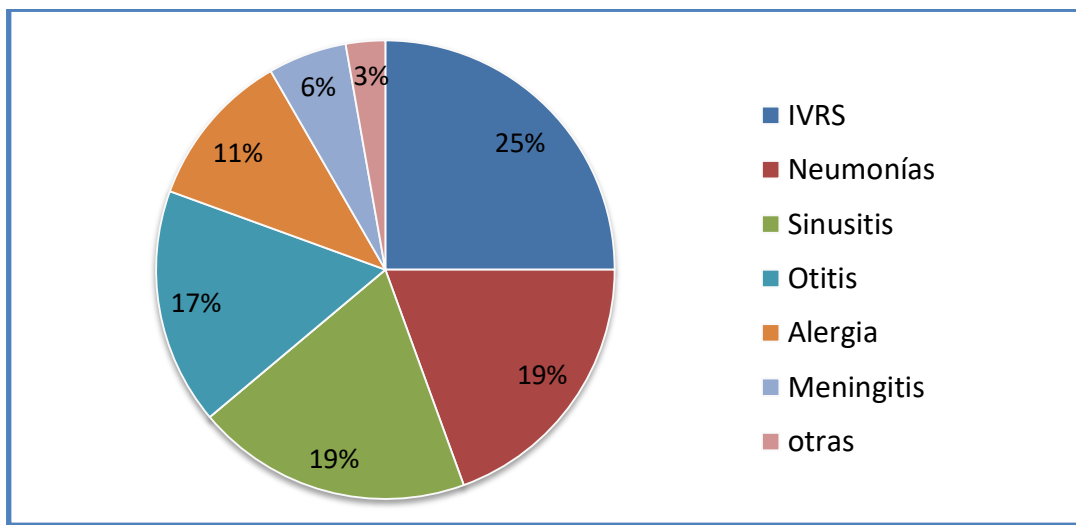


Figura 7. Manifestaciones clínicas de los 34 pacientes pediátricos con sospecha de inmunodeficiencia específica de anticuerpos.

En cuanto a los pacientes que fueron diagnosticados con SAD, se encontró que las infecciones de vías respiratorias también fueron la principal manifestación clínica como se muestra en la Figura 8, seguidas de neumonías y un 9% de los pacientes presentaban inmunodeficiencia común variable (ICV), tos crónica o sinusitis.

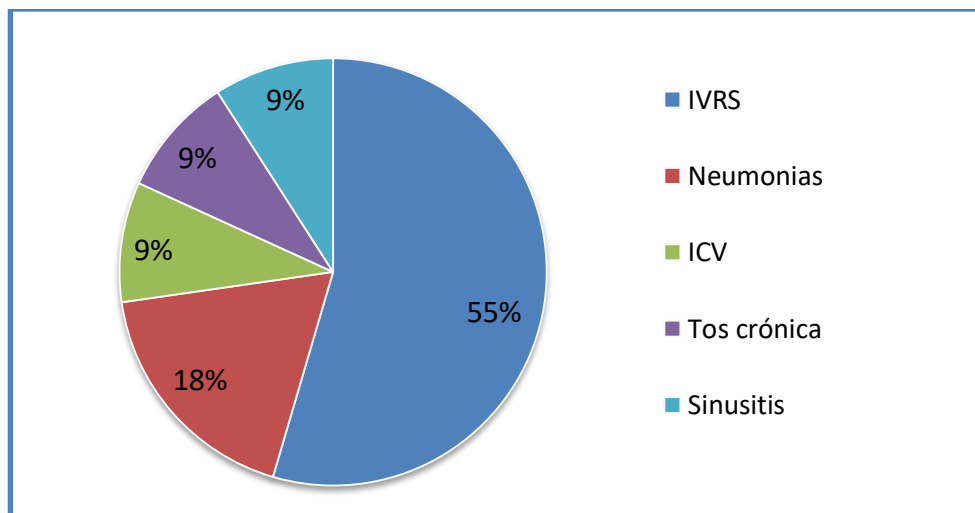


Figura 8. Manifestaciones clínicas de los 10 pacientes con deficiencia específica de anticuerpos.

En la Figura 9 se muestra que de los pacientes con SAD que presentaron infecciones de vías respiratorias (IVRS) el 40% cursaban al mismo tiempo con neumonías, mientras que en menor proporción los pacientes cursaban solo con IVRS.

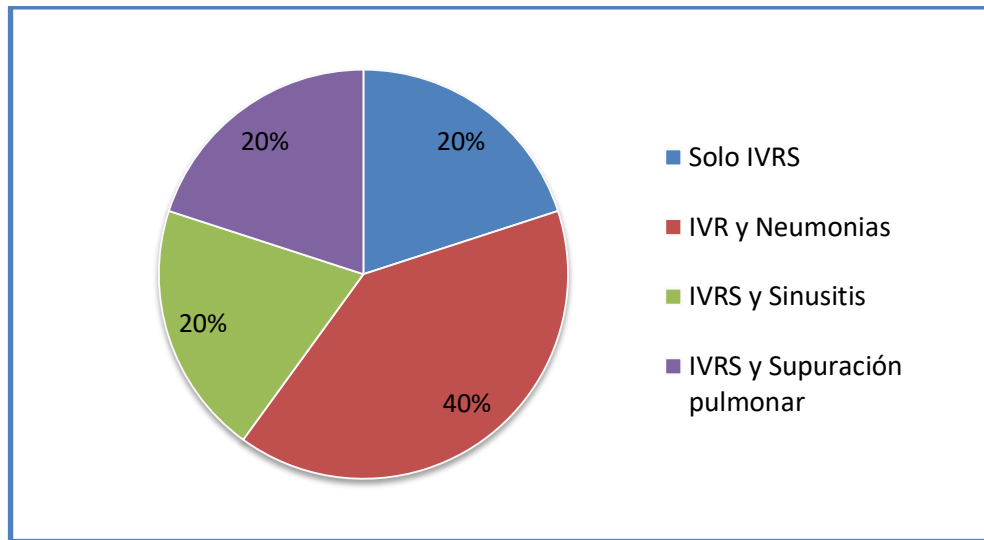


Figura 9. Manifestaciones clínicas asociadas con infección de vías respiratorias superiores de los 10 pacientes con deficiencia específica de anticuerpos

CUANTIFICACION DE ANTICUERPOS Y DETERMINACION DEL INDICE DE AVIDEZ

Las concentraciones de anticuerpos de los pacientes que fueron diagnosticados con SAD se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Concentraciones en $\mu\text{g/mL}$ de anticuerpos (IgG) contra antígenos polisacáridos de neumococo de los pacientes con SAD en los estudios pre-vacunación y post-vacunación.

| Serotipo | Paciente 1 | | Paciente 2 | | Paciente 3 | | Paciente 4 | | Paciente 5 | |
|-----------------|------------|------|------------|------|-------------|------|------------|------|------------|------|
| | 16 años | | 13 años | | 9 años | | 12 años | | 10 años | |
| | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST |
| 1 | ND | ND | 0.6 | 4.2 | 1.6 | 7.9 | 1.0 | 2.1 | 0.0 | ND |
| 3 | 0.1 | 0.0 | 0.5 | 0.9 | 1.1 | 1.2 | 1.2 | 1.3 | 0.0 | ND |
| 4 | 0.0 | 1.7 | 0.2 | 0.5 | 0.2 | 3.1 | 0.7 | 3.5 | ND | ND |
| 5 | 0.0 | 1.0 | 1.2 | 2.6 | 24.7 | 36.7 | 1.7 | 5.8 | ND | ND |
| 6 ^a | ND | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.9 | 1.1 | 7.4 | 13.1 | ND | ND |
| 6B | ND | ND | 0.8 | 2.4 | 0.4 | 1.1 | 0.4 | 0.6 | ND | ND |
| 8 | 0.0 | 0.0 | 0.4 | 2.1 | 1.4 | 18.6 | 2.0 | 5.7 | ND | ND |
| 9V | ND | ND | 0.0 | 0.6 | 1.9 | 14.0 | 0.7 | 1.3 | ND | ND |
| 11 ^a | 0.0 | 0.1 | 0.2 | 1.3 | 0.6 | 5.3 | 2.1 | 5.8 | ND | ND |
| 14 | ND | ND | 0.5 | 0.7 | ND | 5.6 | ND | 30.6 | ND | ND |
| 18C | 0.0 | 0.0 | 0.4 | 0.9 | ND | 0.7 | 0.0 | ND | ND | ND |
| 19F | ND | ND | 0.2 | ND | 2.3 | 11.4 | 4.6 | 4.8 | 0.0 | ND |
| 19 ^a | ND | ND | 1.1 | 3.2 | 13.3 | 19.2 | 6.2 | 6.6 | 0.0 | ND |
| 23 | ND | 2.8 | ND | 0.9 | 0.2 | 0.3 | 1.0 | 1.7 | ND | ND |

| Serotipo | Paciente 6 | | Paciente 7 | | Paciente 8 | | Paciente 9 | | Paciente 10 | |
|-----------------|------------|------|------------|------|------------|------|------------|------|-------------|------|
| | 6 años | | 2 años | | 11 años | | 9 años | | 9 años | |
| | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST |
| 1 | 0.9 | 2.8 | 3.4 | 5.4 | ND | 1.6 | 0.8 | 3.2 | 0.2 | ND |
| 3 | 0.5 | 0.9 | 1.0 | 1.2 | 0.3 | 1.5 | 0.3 | 0.8 | 0.1 | ND |
| 4 | 0.2 | 1.7 | 0.1 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.6 | 1.2 | ND | ND |
| 5 | 1.2 | 3.3 | 1.9 | 4.2 | ND | 24.7 | 0.7 | 1.7 | 7.4 | 23.5 |
| 6 ^a | 0.5 | 0.6 | 1.1 | 1.4 | 0.0 | 0.9 | 1.1 | 1.2 | ND | ND |
| 6B | 1.6 | 5.7 | 1.6 | 1.7 | ND | 0.4 | 0.4 | 2.1 | ND | ND |
| 8 | 1.0 | 5.9 | 0.1 | ND | ND | 1.4 | 2.9 | 18.9 | ND | ND |
| 9V | 0.0 | 2.5 | 1.0 | 1.2 | 0.3 | 1.9 | 0.3 | 5.0 | ND | ND |
| 11 ^a | 0.3 | 5.5 | 0.5 | 0.6 | 0.2 | 0.6 | 0.2 | 1.9 | 0.0 | 0.0 |
| 14 | 0.5 | 1.2 | 2.1 | 2.3 | ND | ND | ND | 9.0 | ND | ND |
| 18C | 0.3 | 4.0 | ND | ND | ND | ND | 0.1 | 0.5 | ND | ND |
| 19F | 2.2 | 18.2 | 4.1 | 6.4 | ND | 2.3 | 3.9 | 4.5 | ND | ND |
| 19 ^a | 2.7 | 8.1 | 6.6 | 7.1 | 0.2 | 13.3 | 3.2 | 5.8 | 0.9 | 0.3 |
| 23 | 0.2 | 0.5 | 0.7 | 0.8 | 0.1 | 0.3 | 0.9 | 3.7 | ND | ND |

ND: Concentración de anticuerpos No Detectada

En los estudios pre-vacunación se puede observar que la mayoría de los pacientes tienen concentraciones de anticuerpos por debajo del valor de corte (1.3 µg/ml) en por lo menos el 60% de los serotipos evaluados por lo que en todos estos casos se identificaron respuestas de anticuerpos contra antígenos polisacáridos inadecuadas. Es importante resaltar que en ese mismo estudio pre-vacunación, los pacientes 3, 4 y 7 tuvieron concentraciones de anticuerpos iguales o mayores a 1.3 µg/mL en 6 serotipos (marcados con rojo en la Tabla 2) y misma respuesta se observó en el estudio post-vacunación, pero al no cubrir los criterios de buena respuesta en el porcentaje mínimo de serotipos evaluados estos casos al igual que los demás fueron diagnosticados con SAD.

Otro hecho a resaltar es lo que se observa en el caso de los pacientes 11 y 12. En la Tabla 3 se muestran las concentraciones de anticuerpos y el índice de avidéz de los estudios pre-vacunación y post-vacunación de esos pacientes; el paciente 11 tiene el esquema de vacunación completo, mientras que el paciente 12 no ha recibido ninguna dosis de vacuna conjugada contra neumococo.

Tabla 3. Concentración de anticuerpos ($\mu\text{g/mL}$) e índice de avidéz de dos pacientes pediátricos sin SAD

| Serotipo | Paciente 11 3 años Esquema de vacunación completo | | | | Paciente 12 8 años Esquema de vacunación incompleto | | | |
|----------|---|-------|------------------|------|---|------|------------------|------|
| | Concentración de anticuerpos | | Índice de avidéz | | Concentración de anticuerpos | | Índice de avidéz | |
| | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST | PRE | POST |
| 1 | 0.1 | 14.5 | ND | 0.7 | 0.3 | 4.9 | 0.0 | 0.4 |
| 3 | 0.5 | 3.0 | 0.2 | 0.7 | 0.1 | 0.7 | 0.0 | 0.5 |
| 4 | 0.4 | 8.3 | ND | 0.6 | 0.1 | 1.6 | 0.0 | 0.4 |
| 5 | 9.4 | 18.3 | 0.0 | 0.9 | 0.3 | 8.0 | 0.0 | 0.3 |
| 6A | 4.6 | 20.6 | 0.4 | 0.9 | ND | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 6B | 0.3 | 32.1 | 0.4 | 1.0 | 0.0 | 0.9 | 0.0 | 0.0 |
| 8 | 0.4 | 7.1 | ND | 0.6 | 0.3 | 7.3 | 0.0 | 0.3 |
| 9V | 1.2 | 24.9 | 0.4 | 0.6 | 0.3 | 6.7 | 0.0 | 0.4 |
| 11A | 0.7 | 12.0 | 0.3 | 0.8 | 0.0 | 3.0 | 0.0 | 0.0 |
| 14 | ND | 17.4 | ND | 0.1 | 0.8 | 32.0 | 0.0 | 0.2 |
| 18C | ND | 6.4 | ND | 0.5 | 0.4 | 15.1 | 0.0 | 0.8 |
| 19F | 19.6 | 104.0 | 0.5 | 0.8 | 1.9 | 39.0 | 0.0 | 0.3 |
| 19A | 8.7 | 10.1 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 6.2 | 0.0 | 0.1 |
| 23 | 7.0 | 7.2 | 0.7 | 0.7 | 0.1 | 4.3 | 0.0 | 0.6 |

De acuerdo a los resultados mostrados en la Tabla 3 de la cuantificación de anticuerpos de estos dos pacientes, se puede observar que ambos pacientes en el estudio pre-vacunación tuvieron una concentración de anticuerpos menor a $1.3 \mu\text{g/mL}$ en la mayoría de los serotipos evaluados, sin embargo, al hacer el estudio post-vacunación se obtuvo una buena respuesta ante el reto antigénico y ambos pacientes cumplieron con el criterio del incremento de la concentración de anticuerpos, por lo que estos dos pacientes no fueron diagnosticados con SAD.

A pesar de que ambos pacientes tuvieron una respuesta adecuada de anticuerpos contra antígenos polisacáridos, en la determinación del índice de avidéz se puede observar una gran diferencia, pues el paciente 11 tuvo un índice de avidéz mayor o igual a 0.5 en 13 de los serotipos evaluados (marcados con rojo en la Tabla 3), en contraste con el paciente 12 que solo mostro índice de avidéz mayor o igual a 0.5 en tres de los serotipos evaluados.

Al realizar el estudio de avidéz en los pacientes con SAD, se encontró que en el estudio pre-vacunación y en todos los serotipos evaluados estos pacientes tenían un índice de avidéz por debajo de 0.3 y que en el estudio post-vacunación el índice de avidéz incremento en todos los serotipos, sin embargo, en ningún serotipo el índice de avidéz fue mayor o igual a 0.5 que indicara que los anticuerpos eran de alta avidéz (Figura 10).

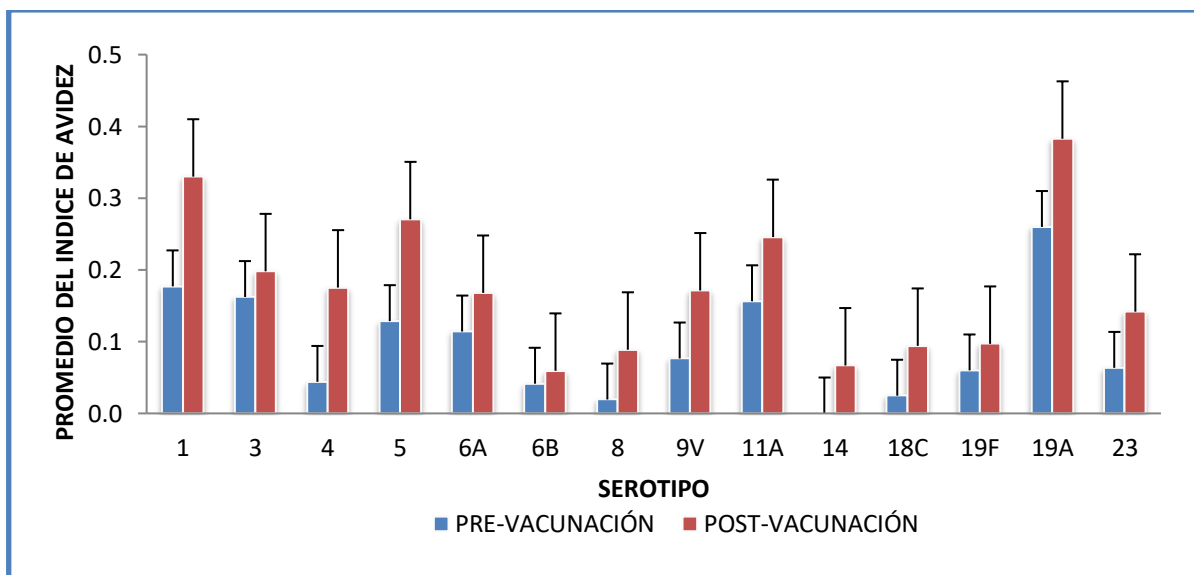


Figura 10. Comparación del promedio del índice de avidéz de los estudios en condiciones pre-vacunación y post-vacunación de los 10 pacientes diagnosticados con SAD.

En la figura 11 se observa que el índice de avidéz del grupo de pacientes sin SAD en el estudio pre-vacunación fue menor de 0.5 en todos los serotipos evaluados, sin embargo, en el estudio post-vacunación estos pacientes mostraron un índice de avidéz mayor a 0.5 en 11 de los serotipos evaluados (1, 3, 4, 5, 6B, 9V, 11A, 18C, 19F, 19A y 23).

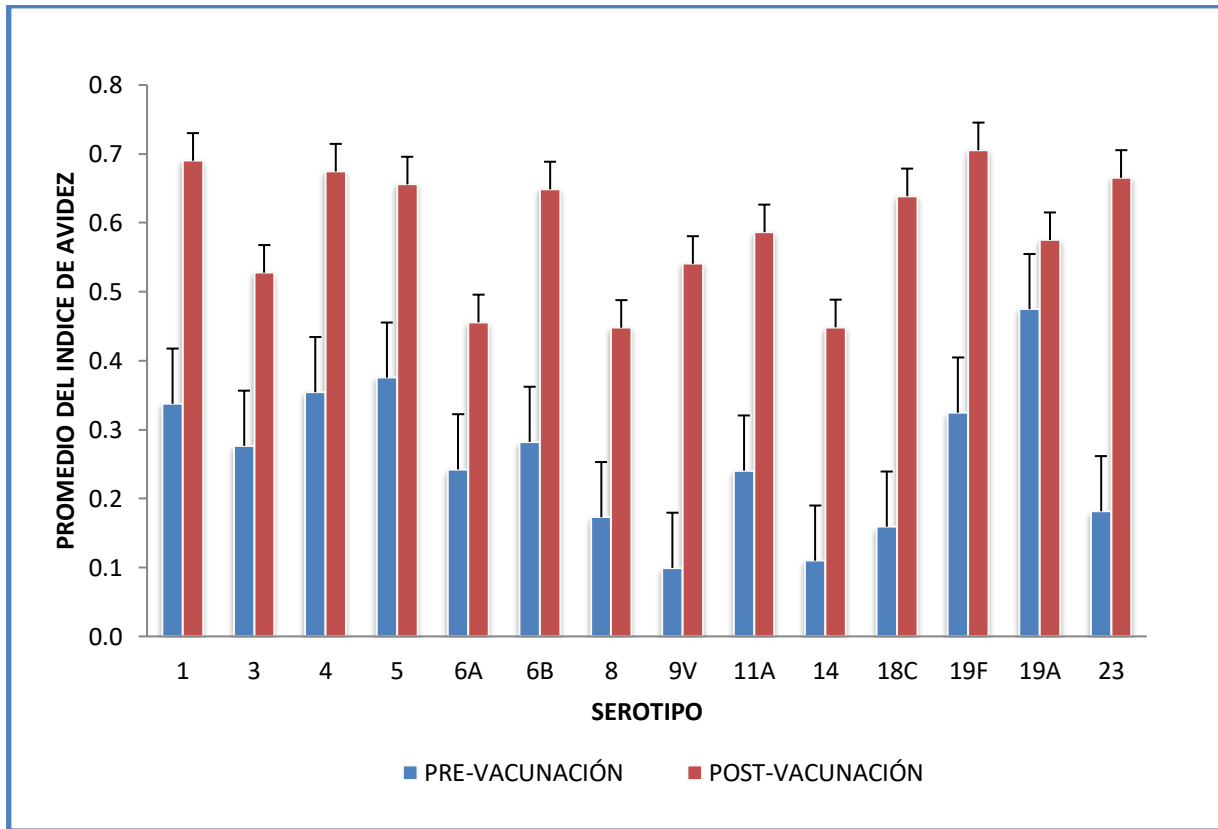


Figura 11. Comparación del promedio del índice de avidéz de los estudios pre-vacunación y post-vacunación de los pacientes sin SAD.

A pesar de que el índice de avidéz de todos los serotipos evaluados en el estudio pre-vacunación de los pacientes con SAD fue menor en comparación con el grupo de pacientes sin SAD, ambos grupos de pacientes tuvieron un índice de avidéz menor a 0.5 (Figura 12). En contraste con el estudio post-vacunación en donde se pudo observar que el índice de avidéz del grupo de pacientes sin SAD es dos veces mayor con respecto al grupo de pacientes con SAD obteniendo valores mayores a 0.5 en 11 de los 14 serotipos evaluados (Figura 13).

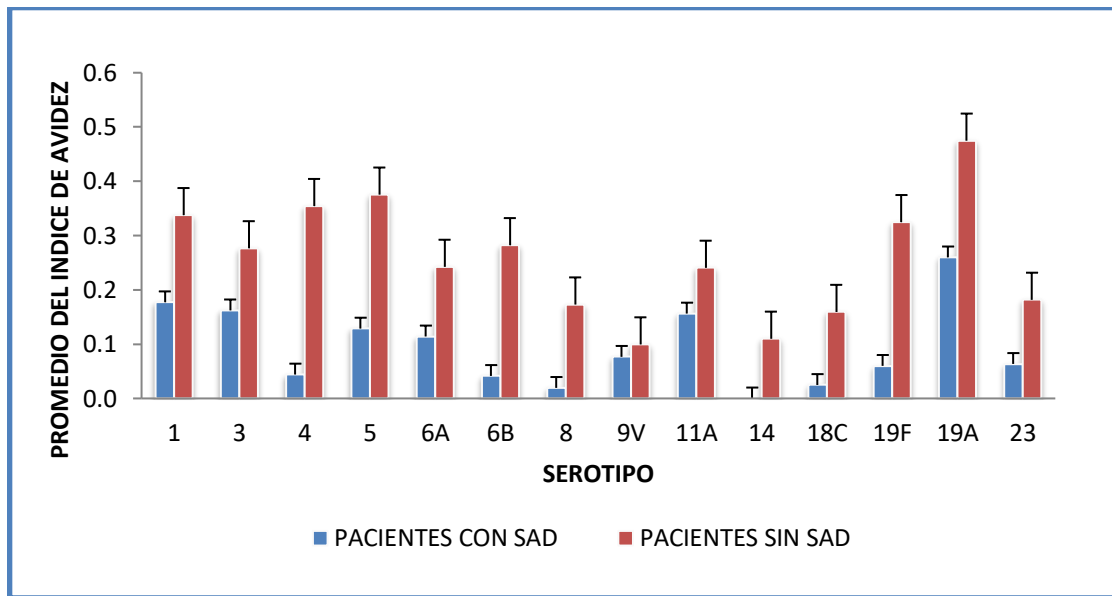


Figura 12. Comparación del promedio del índice de avidéz en el estudio pre-vacunación entre los pacientes con SAD y los pacientes sin SAD.

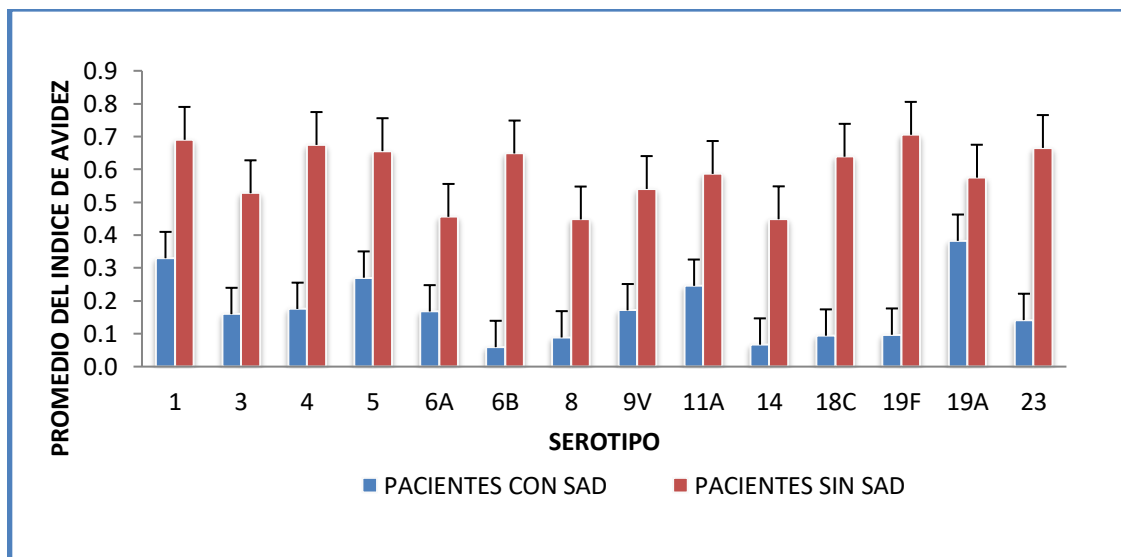


Figura 13. Comparación del promedio del índice de avidéz en el estudio post-vacunación de los pacientes con SAD y los pacientes sin SAD.

El grupo de pacientes que tuvo anticuerpos de alta avidéz (IA mayor o igual a 0.5) en el estudio post-vacunación, fue el grupo de pacientes sin SAD. Estos pacientes se clasificaron en cuatro grupos de estudio dependiendo del número de dosis de VCPn que tenía cada paciente de acuerdo a su esquema de vacunación. Los grupos de estudio tenían desde cero dosis hasta cuatro dosis de VCPn.

En la figura 14 se muestra el promedio del índice de avidéz (IA) de cada grupo de pacientes en el estudio post-vacunación. Se observa que los pacientes que contaban con cero dosis de VCPn tuvieron IA menores a 0.4 en 11 de los serotipos evaluados. Los pacientes con una dosis de VCPn tuvieron IA menores de 0.4 en 5 serotipos y un IA mayor o igual a 0.5 en 6 serotipos. Los pacientes con dos dosis de VCPn tuvieron IA mayor o igual a 0.5 en 7 serotipos y un IA menor a 0.4 en 2 serotipos.

Los pacientes con tres dosis de VCPn fueron los que tuvieron un IA mayor o igual a 0.5 en todos los serotipos evaluados.

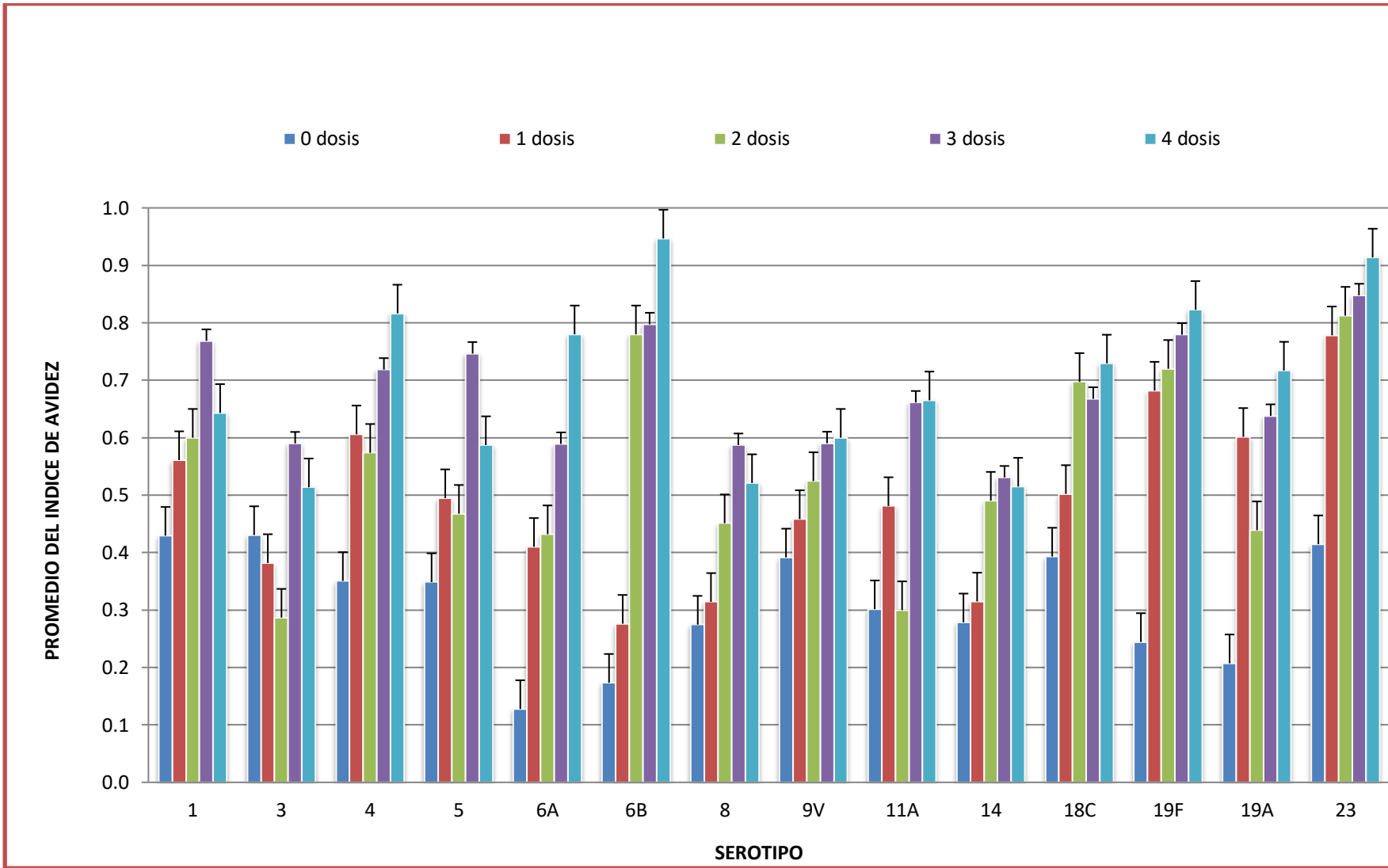


Figura 14. Comparación del promedio del índice de avidéz de los pacientes sin SAD en el estudio post-vacunación. Se muestran los cinco grupos de estudio dependiendo del número de dosis de VCPn con el que contaban los pacientes.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO Y BASE DE DATOS

El desconocimiento de las IDP lleva frecuentemente a un mal diagnóstico o a un retraso en el mismo; considerando que la deficiencia de anticuerpos es la IDP más frecuente³⁷, el realizar estudios de inmunoglobulinas y un adecuado seguimiento clínico pueden proveer suficiente información para sospechar de SAD e indicar un estudio de cuantificación específica de anticuerpos contra antígenos polisacáridos que confirmen el diagnóstico. Uno de los aspectos de importancia en la historia clínica del paciente es que SAD se presenta con infecciones recurrentes que son difíciles de erradicar bajo el tratamiento médico^{75,76}. De esta manera al tener un diagnóstico preciso se puede lograr un tratamiento oportuno para mejorar la calidad de vida del paciente y su familia.

En nuestra población de pacientes con SAD, la mayoría (60%) eran de sexo masculino, lo que podría sugerir que esta inmunodeficiencia probablemente tendría un patrón ligado al sexo, pues se ha reportado que las inmunodeficiencias primarias afectan principalmente a hombres por el patrón ligado al cromosoma X⁷⁷, sin embargo, habría que seguir analizando dicha característica en una población de estudio más grande para poder determinar la asociación de esta inmunodeficiencia.

SAD se define como un problema en la respuesta de inmunoglobulinas (IgG) contra antígenos polisacáridos tras la administración de una vacuna no conjugada de polisacáridos de neumococo. Hasta el momento su patogenia es desconocida, sin embargo, se ha propuesto que esta inmunodeficiencia se debe a un proceso de maduración retardado o anormal de las células B de la zona marginal esplénica, pues los antígenos polisacáridos son reconocidos por estas células⁷⁸. Por lo que se dice que la respuesta frente a antígenos polisacáridos depende de la edad del paciente⁴⁰.

Nuestra población de estudio por sospecha clínica de SAD eran pacientes mayores de 2 años de edad. Se seleccionó a este grupo de pacientes para el estudio puesto que se considera que a

partir de los 2 años de edad se puede determinar la concentración de estos anticuerpos para confirmar o descartar la presencia de SAD, pues antes de esta edad se pueden observar respuestas deficientes frente antígenos polisacáridos por falta de madurez del sistema inmunológico y no propiamente por la presencia de esta inmunodeficiencia ⁷⁹.

Similar a lo reportado, dentro de nuestro grupo de estudio, encontramos que las manifestaciones clínicas más frecuentes son las infecciones de vías respiratorias superiores, neumonías y sinusitis, rinitis y en algunos casos se asocia con alergia, dermatitis o asma ⁸⁰.

De acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), *Streptococcus pneumoniae*, mejor conocido como "neumococo", es la principal causa de muerte prevenible en niños menores de 5 años de edad; pues se estima que al año perecen 1.6 millones de infantes en el mundo por infecciones causadas por esta bacteria. La vacunación es segura y eficaz en la prevención de las enfermedades graves por neumococo, como la meningitis y sus secuelas. También puede disminuir la probabilidad de padecer neumonía y otitis ⁸¹. En la actualidad se dispone de la vacuna conjugada de neumococo 13-valente y en México se recomiendan en un esquema de 3 dosis que contempla su administración a los 2, 4 y 12 meses de edad ⁸².

El 47% de los pacientes evaluados en este trabajo presentaban un esquema de vacunación incompleto, estos resultados toman importancia pues adicionalmente encontramos que todos los pacientes diagnosticados con SAD pertenecían al grupo con esquema de vacunación incompleto. Estudios recientes han registrado que la cantidad de niños no vacunados ha aumentado considerablemente en todo el mundo, a menudo los motivos suelen ser religiosos, ideológicos o falta de atención médica en poblaciones rurales.

La OMS estima que la vacuna antineumocócica tiene una cobertura mundial apenas del 37% y se espera que para el 2020 alcance un 90% a escala nacional ⁸³.

CUANTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS Y DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE AVIDEZ

Para determinar si los pacientes tenían o no la deficiencia específica de anticuerpos, se consideran los criterios ^{51, 52} que son descritos en la Tabla 4 y 4.1:

Tabla 4. Concentración de anticuerpos en el estudio pre y post vacunación

| [Anticuerpos] en el estudio pre-vacunación | [Anticuerpos] en el estudio post-vacunación |
|---|---|
| Menor a 1.3 µg/mL | En este estudio debe haber un incremento de por lo menos 4 veces la concentración respecto al estudio pre-vacunación. |
| Mayor o igual a 1.3 µg/mL | En este estudio debe haber un incremento de por lo menos 2 veces la concentración respecto al estudio pre-vacunación. |

Además del criterio anterior, también se evaluó el porcentaje mínimo de serotipos al que se debía responder según el grupo etario al que correspondía cada paciente.

Tabla 4.1. Respuesta adecuada a los serotipos de neumococo según la edad del paciente

| Grupo etario | Respuesta adecuada al % de los serotipos evaluados |
|--------------------------|--|
| 2 a 5 años | 50% |
| Mayores de 5 años | 70% |

Tras la determinación de la concentración de anticuerpos contra antígenos polisacáridos, se pudo detectar que el 29% de los pacientes tenían SAD, este resultado difiere con lo reportado por la Sociedad Latinoamericana de Inmunodeficiencias Primarias (LASID) del 5-10% de pacientes evaluados por presentar infecciones respiratorias recurrentes ⁵¹. La diferencia al encontrar un porcentaje mayor en nuestra población de estudio puede deberse a que la Unidad de Inmunodeficiencias del Instituto Nacional de Pediatría, por ser el Centro Nacional de referencia para el estudio y diagnóstico de Inmunodeficiencias Primarias, recibe a pacientes que ya han pasado los filtros diagnósticos de otras causas de infecciones recurrentes del tracto

respiratorio, lo que puede impactar en el número de casos de SAD encontrados en el presente trabajo, adicionalmente la población en estudio es pequeña para poder hacer el cálculo de la prevalencia real de la enfermedad.

Al administrar la VNCPn a los pacientes, en general, se obtuvo una mayor concentración de anticuerpos y adicionalmente un aumento del índice de avidéz en la mayoría de los serotipos. Destacando que en los serotipos 6A, 8 y 14 fueron en los que se obtuvo un IA < 0.5 tanto en el estudio pre-vacunación como post-vacunación. Esto debido a que se considera que algunos serotipos son poco inmunógenos de acuerdo a lo publicado por Laferriere C ⁸⁴ que reporta respuestas deficientes frente los serotipos 6A, 14, 6B, 19F y 23; esto probablemente a su tamaño y baja complejidad química, por lo que se obtendrán respuestas deficientes frente a esos serotipos.

En lo referente a la prevalencia de SAD por sexo y edad nosotros encontramos que el sexo masculino tiene mayor prevalencia con el 60% y que el 90% eran mayores de 5 años de edad.

Después de realizar la cuantificación de anticuerpos, se decidió evaluar el índice de avidéz; debido a que la concentración de anticuerpos es un factor importante de protección pero que no garantiza una respuesta protectora, ya que ésta no solo depende de la concentración de anticuerpos sino también del funcionamiento óptimo de los mismos.

El índice de avidéz es un parámetro útil para evaluar de forma rápida la funcionalidad de los anticuerpos, y por lo que anticuerpos con índice de avidéz > 0.5 pueden ser el reflejo de anticuerpos con alta afinidad por su antígeno y contribuir a la erradicación de neumococo por mecanismos como la fagocitosis mediada por anticuerpos ⁸⁵.

Un método común y eficiente para evaluar la avidéz de un anticuerpo contra un antígeno específico es un inmunoensayo ELISA de avidéz, el cual está basado en la disociación de complejos antígeno-anticuerpo, en este protocolo se utilizó Urea a una concentración 6M como agente desestabilizador de las interacciones no covalentes de dicha unión, por lo tanto, si se disocia fácilmente la unión de los anticuerpos, es debido a que poseen baja afinidad por su

antígeno, mientras que los anticuerpos con alta afinidad no serán disociados y permanecerán unidos a su antígeno específico ⁸⁶. Así entonces, el índice de avidéz (IA) es la proporción de anticuerpos que permanecieron unidos al antígeno específico después del tratamiento con la Urea.

Cuando el IA de la IgG específica para antígenos polisacáridos de neumococo es menor a 0.40, se dice que los anticuerpos son de baja avidéz, si el IA se encuentra entre 0.40 y 0.49, los anticuerpos serán de avidéz intermedia; y cuando el IA es mayor o igual a 0.50 se dice que los anticuerpos tienen avidéz alta ⁸⁷.

El índice de avidéz de los pacientes que fueron diagnosticados con SAD fue menor a 0.5 en todos los serotipos evaluados, tanto en los estudios pre-vacunación como post-vacunación, esto es totalmente esperado por que existe una alteración en su sistema inmunológico; por lo que es de esperarse que, si no tuvieron una concentración adecuada de anticuerpos frente al reto antigénico, la calidad de estos anticuerpos en lo referente a su funcionalidad tampoco sea óptima.

Respecto al grupo de pacientes que no fueron diagnosticados con SAD, los pacientes tuvieron una concentración adecuada de anticuerpos según los criterios establecidos anteriormente mencionados; lo que permitió no diagnosticarlos con SAD. Dentro de este grupo, los pacientes que tenían el esquema de vacunación completo fueron los que tuvieron un IA ≥ 0.5 en todos los serotipos evaluados en el estudio post-vacunación, lo que indica que sus anticuerpos son de alta avidéz.

El hecho de que se haya obtenido una mejor avidéz en el estudio post-vacunación nos indica que los pacientes tuvieron una respuesta de anticuerpos adecuada frente al reto antígeno y que la administración de la vacuna estimuló a las células B de su sistema inmune induciendo elevadas concentraciones de anticuerpos. Así mismo, el hecho de que los pacientes con esquema de vacunación completo hayan tenido anticuerpos de avidéz alta se puede explicar debido a que la maduración de la afinidad es un proceso por el cual los linfocitos B producen anticuerpos con una afinidad cada vez mayor durante las repetidas exposiciones al mismo antígeno, favoreciendo la avidéz de los anticuerpos.

Tras la determinación del índice de avidéz en los pacientes sin SAD, al haber identificado a un paciente de 8 años que en el estudio pre-vacunación en todos los serotipos evaluados tuviera anticuerpos de avidéz baja ($IA < 0.4$), y en el estudio post-vacunación solo en 3 serotipos se obtuviera una alta avidéz ($IA \geq 0.5$), indica que los anticuerpos tienen baja afinidad por el agente patógeno, estos resultados nos hacen constatar que el tener una concentración de anticuerpos adecuada no implica anticuerpos de funcionalidad correcta, y esto puede ser un posible motivo de que el paciente tenga infecciones recurrentes del tracto respiratorio.

Es de interés resaltar que este paciente presentaba su esquema de vacunación incompleto, lo que nos indica que una ventaja importante de las vacunas conjugadas de polisacáridos es su capacidad de producir anticuerpos de más alta avidéz con un aumento de la actividad funcional^{21, 49}.

El que un gran número de pacientes independientemente del número de dosis de VCPn con el que contaban según su esquema de vacunación, después de administrar la VNCPn, desarrollaran concentraciones de anticuerpos superiores e IA mayores a 0.5 representa el resultado de mayor impacto en este estudio, pues la VNCPn además de ser utilizada en el diagnóstico de SAD, podría proporcionar un beneficio en los pacientes con infecciones de repetición del tracto respiratorio al generar anticuerpos de mayor afinidad.

Nuestros resultados sugieren que además de la cuantificación de anticuerpos para apoyar en el diagnóstico de SAD, se debe considerar la evaluación del índice de avidéz de los anticuerpos como una prueba que puede valorar la actividad funcional de los anticuerpos. De igual manera es de vital importancia que después de realizar dichas pruebas, se dé seguimiento a los pacientes para conocer su mejora clínica.

CONCLUSIONES

- La implementación del ensayo de ELISA permitió evaluar el índice de avidéz de anticuerpos de clase IgG contra antígenos polisacáridos de neumococo en pacientes pediátricos con sospecha de SAD.
- Se identificó que los pacientes con sospecha clínica de SAD remitidos a la Unidad de Inmunodeficiencias Primarias del INP, en su mayoría fueron de sexo masculino, mayores de 2 años de edad y con infecciones recurrentes de vías respiratorias superiores.
- Se apoyó en el diagnóstico clínico al encontrar que el 29% de los pacientes evaluados tuvieron una baja concentración de anticuerpos contra antígenos polisacáridos, indicando la presencia de la deficiencia específica de anticuerpos (SAD).
- El índice de avidéz en los pacientes con SAD fue menor a 0.5 en todos los serotipos evaluados, indicando anticuerpos de baja avidéz, en comparación con los pacientes sin SAD que en general presentaron un índice de avidéz mayor a 0.5 indicando anticuerpos de alta avidéz.
- Los pacientes que tenían su esquema de vacunación completo (3 dosis de VCPn) en las condiciones post-vacunación del estudio fueron los que tuvieron un índice de avidéz mayor a 0.5 en todos los serotipos evaluados.

RECOMENDACIONES

Este trabajo fue una primera aproximación experimental para detectar anticuerpos funcionales contra antígenos polisacáridos mediante la determinación del índice de avidéz, sin embargo, falta trabajar en una población más grande de pacientes para corroborar los resultados obtenidos.

Si se comenzara a implementar la prueba de determinación del índice de avidéz como complemento en el diagnóstico de SAD, hay que considerar que se deben de realizar protocolos en nuestra población pediátrica para estandarizar la prueba.

REFERENCIAS

- 1 Ortega Ma. Claudia, Generalidades sobre inmunodeficiencias primarias, *Universitarias Medica*, 2005,46(2): 48-51.
- 2 European Society for Immunodeficiencies: ESID, Junio 2014, Major Immunodeficiency Groups, [en línea] <<http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>> [consulta: julio 2017].
- 3 Ruuskanen O, Nurkka A, Herminen M, Viljanen M and Kainulainen L, Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up, *Clinical & Experimental Immunology*, 2012; 172: 238-244.
- 4 Shannon L. Harris, How T., Lindsey A., David G. and Philip F., Avidity of the Immunoglobulin G Response to a *Neisseria meningitidis* Group C Polysaccharide Conjugate Vaccine as Measured by Inhibition and Chaotropic Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, *Clinical and Vaccine Immunology*, 2007; 14(4): 397–403.
- 5 Abbas Abul K. Andrew H. Lichtman, *Cellular and Molecular Immunology*, 8a edición, ELSEVIER, 2015, 1p.
- 6 Kevin t. Schultz and Franziska Gried, *Structure and Function of the Immune System*, *Toxicologic Pathology*, 1987, 15 (3): 262-264.
- 7 OMS (2016).Notas descriptivas, Neumonía, Organización Mundial de la Salud.
- 8 Mayani Héctor, Flores-Figueroa E.,Pelayo R., *Hematopoyesis*, *Cancerología 2*, 2007, 95-107p.
- 9 Vega Robledo Gloria, Órganos linfoides, *Inmunología para el médico general*, *Rev Fac Med*, 52 (5): 234-236, 2009.
- 10 U.N.E.R - Bioingeniería – Fisiopatología, Capítulo VI, *SISTEMA INMUNOLÓGICO*, 2010, 73-91p
- 11 Vega Robledo Gloria, *Antibodies*, *Rev Fac Med UNAM*, 52(3): 136-138, 2009.
- 12 Padrón González, A. A., & Dorta Contreras, A. J., Activación del complemento por la vía de las lectinas: rol en las enfermedades reumáticas. *Revista Cubana de Reumatología*, 19, 231-234, 2017.
- 13 Vega Robledo Gloria, *Inmunidad natural o innata*, *Rev Fac Med UNAM*, 51(4): 171-172, 2008.
- 14 Juárez Carvajal, Sullivan L. José, Torres R. Martha, *Receptores de la inmunidad innata en procesos infecciosos pulmonares*, *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*, 22(4): 366-378, 2009.

-
- 15 Toche P. Paola, Visión panorámica del sistema inmune, Revista Médica Clínica Las Condes, 23(4): 446-457, 2012.
 - 16 Castellanos M. Rosa, Guevara R. Mercedes, Robinson R. Rosa, Respuestas inmunes innata y adaptativa, MEDISAN, 2000, 4(2):64-74.
 - 17 M. Levy Estrella, CIO-FUCA, Medicina Molecular, Aspectos moleculares de la inmunidad innata, 2011.
 - 18 Rosenstein, Y., Garcia-Garcia, E. & Becker, Mecanismos celulares y moleculares de la respuesta inmune adquirida.
 - 19 Bradley LM: Migration and T-lymphocyte effector function, Current Opinion in Immunology 15: 343-348, 2003.
 - 20 Autores cubanos, Inmunidad específica o adaptativa, Fases de la respuesta inmune, Editorial Ciencias Médicas, Tomo II, Cuba, 2006.
 - 21 Calderón P. Rocío, Inmunología, Instituto de Biotecnología UNAM, Junio 2007, 13-14p.
 - 22 Fainboim & Geffner, Introducción a la Inmunología humana, 5ª edición, Buenos Aires, Médica Panamericana, 2008, 154-156p.
 - 23 García Tamayo F, Fundamentos de inmunología, UNAM, 1ª edición, México, 1997, 160-166p.
 - 24 Fernández, S., Sempere Ortells, J. M., Marco, F. M., & Vázquez Araujo, B., Reacción antígeno-anticuerpo. Inmunología, 2013.
 - 25 Rojas Espinoza O, Inmunología (de memoria), 3ª edición, Argentina , Médica Panamericana, 2006, 108-109p.
 - 26 Gene Maye, Microbiology and Immunology, Immunology - Antigens, [en línea], <<http://www.microbiologybook.org/mayer/antigens2000.htm>> [consulta: noviembre 2018].
 - 27 Casal, J., & Fenoli, A., Inmunogenicidad de la vacuna antineumocócica 23-valente en adultos. Vacunas, 1(4): 169-172, 2000.
 - 28 Pineda Solas V, Vacunas Conjugadas, Rev Pediatr Aten Primaria. 2005, 7 Supl 4:65-74.
 - 29 Mond J, Vos Q, Lees A, T cell independent antigens, Current Opinion in Immunology, 1995; 7(3):349-54.
 - 30 Enrique I. Pareja, La respuesta inmune humoral específica, [en línea], <<https://www.ugr.es/eianez/inmuno/cap12.htm>> [consulta: agosto 2018].
 - 31 Vega Robledo Gloria, La respuesta inmune, Rev Fac Med UNAM, 51(3): 128-129, 2008.
 - 32 Rivera, L. E., Ramos, A., & Desgarenes, C. La función inmunológica de la piel. Dermatología Venezolana, 2005, 43(2).

-
- 33 Análisis de la respuesta inmunitaria a las vacunas, Facultad de Medicina- UNAM, [en línea], <https://www.sabin.org/sites/sabin.org/files/JoselgnacioSantos_analisis.pdf> [consulta: septiembre 2018].
- 34 Schroeder HW, Cavacini L. Structure and Function of Immunoglobulins. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2010; 125(2 0 2):41-52.
- 35 Rendón Anaya M. & Alagón A. Mecanismos moleculares de diversificación de inmunoglobulinas, 2008, REB 27(1): 19-29.
- 36 Arnaiz Villena A., Regueiro J.R. y López Larreda, *Inmunología*, Editorial Complutense, Madrid, 1995, 39-46p.
- 37 Arce Hernández, A. A., & Villaescusa Blanco, R. Subclases de IgG en enfermedades: significado clínico. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 2004, 20(3).
- 38 Román, A. F., & Sánchez, S. O. Inmunoterapia específica con alérgenos. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 2008, 32(2): 39-44.
- 39 Salas Chaves, P., Alfaro Bourrouet, W., & Soto Quirós, M. (2004). Anticuerpos IgE específicos de alérgenos comunes en niños costarricenses.
- 40 Abbas Abul K. Andrew H. Lichtman, *Cellular and Molecular Immunology*, 8a edición, ELSEVIER, 2015, 101-103.
- 41 Condori López Paola, Reacción antígeno anticuerpo, *Revista Clínica Médica*, 2011, 13:1-5.
- 42 Bautista-Juárez, J. II. Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo. *Gaceta Médica de México*, 2004, 140(S3): 28-30.
- 43 Roitt, I. M., Brostoff, J., & Male, D. K. *Inmunología*. Harcourt, 2000, 71-79p.
- 44 Roitt I, Delves P, Martin S, *Inmunología-Fundamentos*, 11ª edición, Medica Panamericana, 2008, 61-63p.
- 45 Abyntek, Anticuerpos, Investigación, tres diferencias entre afinidad y avididad de los anticuerpos, 2018.
- 46 Shannon L. Harris, How T., Lindsey A., David G. and Philip F., Avidity of the Immunoglobulin G Response to a *Neisseria meningitidis* Group C Polysaccharide Conjugate Vaccine as Measured by Inhibition and Chaotropic Enzyme-Linked Immunosorbent Assays, *Clinical and Vaccine Immunology*, 2007; 14(4): 397-403.
- 47 Perciani, C.T., Peixoto, P.S., Dias, W.O., Kubrusly, F.S. and Tanizaki, M.M., Improved method to calculate the antibody avidity index. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2007, 21: 201-206.

-
- 48 Licciardi, P. V., Balloch, A., Russell, F. M., Burton, R. L., Lin, J., Nahm, M. H. & Tang, M. L., Pneumococcal polysaccharide vaccine at 12 months of age produces functional immune responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2012, 129(3): 794-800.
- 49 Guntiñas Zamora, M. V. Inmunodeficiencias en la infancia. *Revista Cubana de Pediatría*, 2003, 75(4).
- 50 Abbas Abul K. Andrew H. Lichtman, *Cellular and Molecular Immunology*, 8a edición, ELSEVIER, 2015, 437-450.
- 51 Ortega Ma. Claudia, Generalidades sobre inmunodeficiencias primarias, *Universitarias Medica*, 2005,46(2): 48-51.
- 52 A. Martín-Nalda, P. Soler-Palacín, T. Español Borén, I. Caragol Urgelles, C. Díaz de Heredia Rubio, C. Figueras Nadal, Spectrum of primary immunodeficiencies in a tertiary hospital over a period of 10 years, *Anales de Pediatría*; 2011; 74(2)74-83.
- 53 Hernández-Martínez C, Espinosa-Rosales F, Espinosa-Padilla SE, Hernández-Martínez AR, Blancas-Galicia L. Conceptos básicos de las inmunodeficiencias primarias. *Rev Alerg Méx.* 2016; 63(2):180-189.
- 54 Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova J, Chatila T, Conley M, & cols, Primary immunodeficiency diseases: an update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency, *Frontiers in Immunology*, April 2014, 5 (article 162): 1-33.
- 55 Méndez J, Bellanti A, Ovilla R, Inmunodeficiencias primarias y alergia, *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 2008; 17(1): 14-34.
- 56 Garcia Martinez JM, Santos Diez L, Dopazo L, Diagnostico de las inmunodeficiencias primarias. *Sección de alergia e inmunología clínica*, 2013; 1:81-92.
- 57 European Society for Immunodeficiencies: ESID, Junio 2014, Major Immunodeficiency Groups, [en línea] <<http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>> [consulta: julio 2017].
- 58 Contreras Ruiz J, Inmunodeficiencias primarias. Enfoque y tratamiento iniciales. *An Prdiatr Contin*, 2003 1(3):131-138.
- 59 Ruuskanen O, Nurkka A, Herminen M, Viljanen M and Kainulainen L, Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up, *Clinical & Experimental Immunology*, 2012; 172: 238-244.
- 60 Boyle RJ, Le C, Balloch A and Tang M, The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children, *Clinical and Experimental Immunology*, 2006; 146: 486-492.

-
- 61 Briles, D. E. et al. Immunizations with pneumococcal surface protein A and pneumolysin are protective against pneumonia in a murine model of pulmonary infection with *Streptococcus pneumoniae*. *The Journal of Infectious Diseases* 2002, 185: 91–97.
- 62 Vorob'ev, D. S., Semenova, I. B. & Kurbatova, E. A. Proteins of *Streptococcus pneumoniae*: perspectives for development of pneumococcal vaccine. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii* 2010, 98–104.
- 63 Ferreyra PN, Nagao A, Costa-Carvalho B, Carneiro-Sampaio M, Syndrome of anti-polysaccharide antibodies deficiency with normal levels of immunoglobulins, *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica*, 2001; 32(4): 109-116.
- 64 CDC, Pneumococcal Disease, 2016, [en línea], <<https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/pneumo.pdf>> [consulta: septiembre 2017].
- 65 Rurinsky Raúl, Gentile Angela, Regueira Mabel, Corso Alejandra, Infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*: estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia, *Arch Argent Pediatric*, 2002; 100(1):31-43.
- 66 Hyams, C., Camberlein, E., Cohen, J. M., Bax, K., & Brown, J. S. (2010). The *Streptococcus pneumoniae* capsule inhibits complement activity and neutrophil phagocytosis by multiple mechanisms. *Infection and immunity*, 78(2), 704-715.
- 67 López López Pío, Infecciones neumocócicas en niños, *Precop SCP Ascofame*, 2004, 3(2): 42-50.
- 68 Las enfermedades neumocócicas y la vacuna que las previene, *Centros para el control y la prevención de enfermedades*, 2014, CS251018-F.
- 69 Infección por neumococo, [en línea], <<http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/neumococo.pdf>> [consulta: julio 2017].
- 70 Blac S, Shinefield H, Flireman B et al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children, *Pediatr Infect Dis*, 2000; 19:187-195.
- 71 Reyes Gómez U, Cruz García LG, Arista Viveros A & cols, Neumococo, *Nuevas Actuales y Nuevas Vacunas*, *Bol Clin Hosp Infant Edo Son*, 2011; 28(1): 27-30.
- 72 Ferreyra PN, Nagao A, Costa-Carvalho B, Carneiro-Sampaio M, Syndrome of anti-polysaccharide antibodies deficiency with normal levels of immunoglobulins, *Archivos de Alergia e Inmunología Clínica*, 2001; 32(4): 109-116.
- 73 Sorensen R. U., Clasificación y manejo de las deficiencias de anticuerpos específicos con inmunoglobulinas normales, *Alergia e Inmunología Pediátrica*, 1997; 6(5): 173-178.

-
- 74 Licciardi, P. V., Balloch, A., Russell, F. M., Burton, R. L., Lin, J., Nahm, M. H. & Tang, M. L., Pneumococcal polysaccharide vaccine at 12 months of age produces functional immune responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2012, 129(3): 794-800.
- 75 Méndez J, Bellanti A, Ovilla R, Inmunodeficiencias primarias y alergia, *Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas*, 2008; 17(1): 14-34.
- 76 Contreras Ruiz J, Inmunodeficiencias primarias. Enfoque y tratamiento iniciales. *An Prdiatr Contin*, 2003 1(3):131-138.
- 77 Hernández-Martínez C, Espinosa-Rosales F, Espinosa-Padilla SE, Hernández-Martínez AR, Blancas-Galicia L. Conceptos básicos de las inmunodeficiencias primarias. *Rev Alerg Méx.* 2016;63(2):180-189.
- 78 Boyle RJ, Le C, Balloch A and Tang M, The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children, *Clinical and Experimental Immunology*, 2006; 146: 486-492.
- 79 Cabanillas D, D'Alessandro V, Diez G, Specific Antibody deficiency. Cases serie, *Arch Argent Pediatr* 2014; 112(6).
- 80 Boyle RJ, Le C, Balloch A and Tang M, The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children, *Clinical and Experimental Immunology*, 2006; 146: 486-492.
- 81 Vacuna antineumocócica conjugada para la inmunización infantil, Documento de posición de la OMS, 2007, [en línea], http://www.who.int/immunization/Pneumococcal_conjugate_vaccine_child_SP.pdf [consulta: diciembre 2018].
- 82 Reyes Gómez U, Cruz García LG, Arista Viveros A & cols, Neumococo, *Nuevas Actuales y Nuevas Vacunas, Bol Clin Hosp Infant Edo Son*, 2011; 28(1): 27-30.
- 83 OMS, Cobertura vacunal, nota descriptiva, 2017, [en línea], <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs378/es/>>. [consulta: enero 2018].
- 84 Laferriere C, The immunogenicity of pneumococcal polysaccharides in infants and children: a meta-regression, *Vaccine*. 2011, 16; 29(40): 6838-47.
- 85 Ekström, Nina et al. "Kinetics and Avidity of Antibodies Evoked by Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccines PncCRM and PncOMPC in the Finnish Otitis Media Vaccine Trial." *Infection and Immunity* 2005, 73.1: 369–377.
- 86 Perciani, C.T., Peixoto, P.S., Dias, W.O., Kubrusly, F.S. and Tanizaki, M.M., Improved method to calculate the antibody avidity index. *J. Clin. Lab. Anal.*, 2007, 21: 201–206.
- 87 Licciardi, P. V., Balloch, A., Russell, F. M., Burton, R. L., Lin, J., Nahm, M. H. & Tang, M. L., Pneumococcal polysaccharide vaccine at 12 months of age produces functional immune responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2012, 129(3): 794-800.