

RESPUESTA DE ANTICUERPOS TOTALES Y ESPECÍFICOS DE NEUMOCOCO
EN NIÑOS CON SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE DEL SUR
COLOMBIANO

SILVIA PATRICIA ORTIZ POLANCO

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2014

RESPUESTA DE ANTICUERPOS TOTALES Y ESPECÍFICOS DE NEUMOCOCO
EN NIÑOS CON SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE DEL SUR
COLOMBIANO

SILVIA PATRICIA ORTIZ POLANCO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Médico (a).

Asesores:

DIANA MERCEDES CASTAÑEDA UVAJOA
Mic. Ind., MSc

CARLOS FERNANDO NARVAEZ ROJAS
MD, MSc., Ph. D

GILBERTO MAURICIO ASTAIZA ARIAS
Medico
Magister en educación y desarrollo comunitario
Doctorado Interfacultades de Salud Pública.

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2014

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Neiva, Diciembre del 2014.

DEDICATORIA

*A Dios, por regalarme la sabiduría y el amor por mi
profesión.*

*A mi familia, por brindarme el apoyo, la fortaleza y los
valores para crecer como persona y profesional.*

SILVIA PATRICIA

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa sus agradecimientos:

A los pacientes que participaron voluntariamente en este estudio.

A la consulta de infección recurrente del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva y al semillero de investigación SINEDIR por su apoyo al estudio.

A mi directora de tesis, Dra. Diana Mercedes Castañeda Uvajoa, por su dedicación, esfuerzo y paciencia, quien con sus conocimientos, su experiencia y su motivación ha logrado que pueda terminar mis estudios con éxito.

A mis docentes por brindarme la oportunidad de adquirir conocimientos, habilidades y motivar mi formación en la investigación con el objetivo de ayudar a la sociedad.

A todos mil gracias...

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	14
1. ANTECEDENTES	15
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	19
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. OBJETIVOS	25
4.1 OBJETIVO GENERAL	25
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
5. MARCO TEÓRICO	26
6. HIPOTESIS	34
7. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES	35
8. DISEÑO METODOLOGICO	37
8.1 TIPO DE ESTUDIO	37
8.2 UBICACIÓN DEL ESTUDIO	37
8.3 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO	37
8.3.1 Población	37
8.3.2 Muestra	37
8.3.3 Muestreo	38
8.4 TECNICAS	38
8.5 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCION DE DATOS	38

		Pág.
8.6	PLAN DE TABULACION Y ANALISIS DE DATOS	39
8.7	CONSIDERACIONES ÉTICAS	39
9.	RESULTADOS	41
9.1	CARACTERISTICAS SOCIODEMOGRAFICAS Y CLINICAS DE LOS PACIENTES CON INFECCION RECURRENTE Y VOLUNTARIOS SANOS	41
9.2	CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINAS TOTALES IgM, IgG e IgA EN NIÑOS CON SIR Y NIÑOS SANOS	42
9.3	CONCENTRACION IgG ESPECIFICA PARA POLISACARIDOS 1,3,4,5, 6B,9V,14, 18 C, 19F Y 23F .DE NEUMOCOCO EN NIÑOS CON SIR VERSUS NIÑOS SANOS	44
10.	DISCUSIÓN	52
11.	CONCLUSIONES	56
12.	RECOMENDACIONES	57
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	58
	ANEXOS	66

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1	Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con infección recurrente y voluntarios sanos	41
Cuadro 2	Concentración sérica de Inmunoglobulinas totales IgM, IgG e IgA (g/l) en niños con SIR y niños sanos. Faltan los valores de referencia por edad	44
Cuadro 3	Títulos de anticuerpos ($\mu\text{g/ml}$) en pacientes SIRA y VS	47
Cuadro 4	Distribución de subpoblaciones de Linfocitos B de memoria en niños con infección recurrente	50

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Concentración de inmunoglobulinas totales	43
Figura 2	Concentración de anticuerpos contra los polisacáridos de neumococo Pn3 y Pn14 en pacientes SIR y VS	45
Figura 3	Inmunofenotipificación de células B	48
Figura 4	Porcentaje de células B de memoria en niños con SIR versus VS	49

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Concentración IgG específica anti neumococo (ug/ml)	46

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A Consentimiento informado	67

RESUMEN

El síndrome de infección recurrente (SIR) es una condición clínica caracterizada por frecuente aparición de infecciones bacterianas y micóticas. Las inmunodeficiencias primarias (IDP) suelen manifestarse tempranamente en la vida como un SIR. Se realizó un estudio descriptivo de serie de casos con dos grupos de comparación que incluye 20 niños sanos y 15 niños procedentes de la consulta de infección recurrente del hospital universitario de Neiva. Inicialmente, se determinaron las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes, posterior, se realizó la evaluación inmunológica que consistía: mediante nefelometría determinar las concentraciones de inmunoglobulinas totales IgG, IgM e IgA, por ELISA determinar las concentraciones de IgG específica para 10 polisacáridos de neumococo, y finalmente se determinó por citometría de flujo la frecuencia y porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos B circulantes empleando los marcadores celulares CD19, CD27, IgD e IgM.

Se estableció que los pacientes presentaban antecedentes de infecciones a repetición siendo la más frecuente la otitis media, además el 40% de los pacientes con SIR presentaban SIRA. Al evaluar los niveles de Inmunoglobulinas totales en los pacientes sanos vs SIR no se encontraron diferencias significativas para la edad, igual que en las subpoblaciones de LBm. Finalmente, al establecer los niveles específicos de IgG se encontraron valores protectores para el 90% de los pacientes con SIR en la mayoría de los serotipos evaluados, mientras que el 10% de los pacientes con SIR mostraron títulos inferiores al nivel protector establecido, y se estableció que el 13.3% de los pacientes con SIR tienen DPA.

Palabras Claves. Síndrome de infección recurrente (SIR), síndrome de infección recurrente anormal (SIRA), Inmunoglobulinas, anticuerpos, inmunodeficiencia primaria, deficiencia predominante de anticuerpos.

ABSTRACT

Recurrent infection syndrome (RIS) is a clinical condition characterized by frequent occurrence of bacterial and fungal infections. Primary immunodeficiencies (PID) usually appear early in life as a RIS. A descriptive case series study was conducted of two comparison groups included 20 healthy children and 15 children from the consultation of recurrent infection of the university hospital in Neiva. Initially, the sociodemographic and clinical characteristics of the patients were determined later, immunological evaluation was performed: by nephelometry to determine the concentrations of total IgG, IgM and IgA, determine concentrations by ELISA specific IgG 10 pneumococcal polysaccharide, and finally it was determined by flow cytometry the percentage and frequency of circulating lymphocyte subpopulations using B cell markers CD19, CD27, IgD and IgM.

It was established that the patients had a history of recurrent infections being the most frequent otitis media, plus 40% of patients with RIS had ARIS. In assessing the levels of total immunoglobulins in healthy patients vs SIR is not found significant differences for age, as in subpopulations of LBM. Finally, in order to find the specific levels of IgG, protective values were found for the 90% of patients with SIR in most serotypes tested, while 10% of patients showed lower guard SIR level set titles, and established that 13.3% of patients with RIS have DPA.

Key words. Recurrent infection syndrome (RIS), abnormal recurrent infection syndrome (ARIS), Immunoglobulins, antibodies, primary immunodeficiency, predominantly antibody deficiencies.

INTRODUCCION

El síndrome de infección recurrente (SIR) es una condición clínica caracterizada por frecuente aparición de infecciones bacterianas y micóticas. Las inmunodeficiencias primarias (IDP) suelen manifestarse tempranamente en la vida como un SIR. Entre las IDP más comunes se encuentra la deficiencia predominante de anticuerpos (Ac) primaria (DAP) que puede ser total o selectiva.

La medición de los niveles de Ac totales y específicos hace parte del abordaje diagnóstico y de seguimiento de estos pacientes. La respuesta inmune frente al *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) que está asociada a una alta mortalidad infantil, ha sido tomada como modelo para el análisis de la respuesta inmune específica puesto que es preferencialmente mediada por inmunoglobulinas (Ig), como la IgG que induce la fagocitosis y la IgA que bloquea el ingreso del microorganismo al hospedero.

Los linfocitos B de memoria son críticos para el mantenimiento de la inmunidad humoral y en especial una subpoblación de linfocitos B de memoria que expresan IgM (LBm IgM), ha sido relacionada con la defensa ante el neumococo.

En el presente estudio se determinaron las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con síndrome de infección recurrente y se evaluó la respuesta humoral representada en el nivel de IgM, IgG e IgA total y la IgG anti-neumococo séricas en niños con SIR. Adicionalmente, ya que los LBm son críticos en la respuesta inmune a este patógeno, se determinó la frecuencia de las diversas subpoblaciones de LB que incluye a los LBm IgM.

Se encontró que el 40% de los pacientes presentaban síndrome de infección recurrente anormal de acuerdo con los criterios clínicos establecidos por el comité internacional de inmunodeficiencias primarias. No se observaron diferencias significativas para la edad en los pacientes sanos Vs SIR al evaluar los niveles de Inmunoglobulinas totales, igual que en las subpoblaciones de LBm.

En los niveles específicos de IgG se encontraron valores protectores en los títulos de anticuerpos en la mayoría de los serotipos evaluados, además se encontró que el 10% de los pacientes con SIR presentaban títulos inferiores al nivel protector establecido. Con nuestro estudio se espera haber ayudado al diagnóstico y por lo tanto al enfoque terapéutico de los niños del Sur de Colombia que asisten a la consulta de infección recurrente en el Hospital Universitario de Neiva.

1. ANTECEDENTES

El síndrome de infección recurrente es una manifestación clínica de un proceso, por lo general, subclínico o asintomático, que resulta del contacto permanente de un individuo con agentes infecciosos que se encuentran en el ambiente¹. El síndrome de infección recurrente es la principal manifestación clínica de las inmunodeficiencias primarias que son alteraciones genéticas de origen congénito o hereditario que comprometen los componentes básicos del sistema inmune contra los microorganismos.

Se han realizado múltiples estudios clínicos y experimentales con el fin de determinar los fenotipos inmunológicos de los pacientes con infecciones recurrentes². Los pacientes con infecciones recurrentes han sido ampliamente estudiados clínicamente determinando sus características sociodemográficas y clínicas, también realizando diferentes pruebas de laboratorio que permitan el diagnóstico de las inmunodeficiencias primarias. El diagnóstico de estas patologías incluye técnicas como nefelometría, ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), citometría de flujo como se puede mostrar en múltiples estudios que se exponen a continuación.

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal en Cúcuta desde noviembre de 2003 a enero de 2004 con el objetivo de caracterizar desde el punto de vista epidemiológico, clínico e inmunológico el síndrome de infección recurrente en niños y adolescentes desplazados, se les realizó una encuesta a 328 pacientes teniendo en cuenta el flujograma³ para la evaluación de pacientes con infección recurrente, donde se incluyeron los pacientes que cumplieran con al menos dos o tres criterios para infección recurrente, a los casos sospechosos de síndrome de infección recurrente anormal se les realizó la evaluación médica y exámenes de laboratorio. Se encontró en el estudio una edad promedio de 6,1 años, el 21,3 % fueron clasificados como pacientes con síndrome de infección recurrente y el 5,8% con síndrome de infección recurrente anormal, importante mencionar que los sitios de presentación más frecuente de las infecciones correspondían al tracto

¹Montoya CJ, Orrego JC, Patiño PJ, Franco JL. Síndrome de infección recurrente. En: Correa JA, Gómez JF, Posada R, editores. Fundamentos de Pediatría. Tomo V. Tercera edición. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2007. p. 250-7.

² Arkwright PD, and Gennery AR. Ten warning signs of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann N Y Acad Sci* 2011; Nov;1238(1):7-14.

³Montoya CJ, Salgado H, Olivares MM, Patiño PJ. Evaluación de la respuesta inmune en el paciente con infección recurrente sospechoso de padecer inmunodeficiencia. *Salud UIS* 2000; 32:105-11.

respiratorio y la piel. De estos pacientes se determinó una posible inmunodeficiencia primaria específica selectiva de IgA en el 5,27 %, debido a que se encontraron valores menores para la edad⁴.

La deficiencia específica de anticuerpos es una inmunodeficiencia primaria que se ha reportado en adultos y niños con infecciones recurrentes del tracto respiratorio⁵, y se asocia a infecciones por microorganismos con polisacárido capsular como el *Streptococcus pneumoniae*⁶, se puede evaluar la respuesta de anticuerpos a los antígenos de polisacáridos midiendo la respuesta a la Vacuna antineumocócica polisacárida 23-valente⁷. Se realizó un estudio donde se evaluó el síndrome clínico de la deficiencia específica de anticuerpos y el síndrome de infección recurrente mediante la comparación clínica de estas dos entidades. Se definió el síndrome de deficiencia de anticuerpos específicos como una respuesta de anticuerpos IgG adecuada a menos del 50% de los serotipos evaluados de neumococo, teniendo en cuenta que se considera una respuesta adecuada de IgG con títulos después de la inmunización con un valor 1.3 mg / ml⁸.

En este estudio se evaluaron setenta y cuatro niños con infección recurrente y fueron excluidos aquellos que presentaran inmunodeficiencias secundarias, medicamentos inmunosupresores y anomalías anatómicas. A todos los pacientes se les evaluaron los títulos de anticuerpos IgG anti-neumocócicas mediante un protocolo de ELISA modificado desarrollado por la OMS⁹. Los resultados del estudio mostraron que el 14,9 % de los pacientes presentaban deficiencia específica de anticuerpos y presentaban características clínicas diferentes, encontrándose que el antecedente de otitis media y eczema se asocia con mayor riesgo de este síndrome.

⁴ Miguel Angel Díaz, Dairo Mauricio Sarrazola, Julio César Orrego. Caracterización epidemiológica, clínica y de algunos parámetros inmunológicos del síndrome de infección recurrente en niños y adolescentes desplazados a la ciudad de Cúcuta. Vol. 12 - 1, 2008 Asociación Colombiana de Infectología.

⁵ Ambrosino DM, Siber GR, Chilmonezyk BA, Jernberg JB, Finberg RW. An immunodeficiency characterized by impaired antibody responses to polysaccharides. *N Engl J Med.* 1987;316:790–3.

⁶ Musher DM. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. *Clin Infect Dis* 1992; 14:801-809

⁷ Sorensen RU, Leiva LE, Javier FC, III, *et al.* Influence of age on the response to *Streptococcus pneumoniae* vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:215–221

⁸ Boyle RJ, Le C, Balloch A, Tang M. The clinical syndrome of antibody deficiency in children. *Clin Exp Immunol* 2006; **146**:486–92.

⁹ Wernette CM, Frasch CE, Madore D, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2003;10:514–9

Los pacientes con infecciones recurrentes pueden presentar niveles de IgG anti-neumocócicas normales o pueden tener una respuesta anormal a los polisacáridos de neumococo¹⁰. La evaluación de los títulos de anticuerpos pre-inmunización y post-vacunales de neumococo en niños con infección recurrente ha sido realizada en diferentes estudios¹¹⁻¹², se evaluó una población de niños de 1 a 16 años y adultos a los que se les realizó toma de los títulos de IgG contra los serotipos de neumococo 4 a 6 semanas después de la vacunación. En el estudio se encontró que las concentraciones de anticuerpos antes de la vacunación eran paralelas a los valores posteriores a la vacunación para los diferentes grupos de edad, el aumento de los títulos de anticuerpos fue mayor para los niños comparados con los adolescentes y adultos y se encontraron variaciones dependientes de los serotipos evaluados¹³.

El estudio de los pacientes que presentan infecciones recurrentes se encuentra ampliamente documentado e investigado debido a que son patologías que generan deterioro en la calidad de vida de los pacientes, además resaltar que la mayoría de los pacientes son de edad pediátrica que pueden llegar a presentar infecciones a repetición de las vías aéreas superiores como se reporta en el siguiente estudio realizado desde marzo de 2003 a marzo de 2006 en Teheran Irán donde se evaluó la frecuencia de posibles inmunodeficiencias responsables de la susceptibilidad a infecciones de la cavidad nasal, oído y garganta¹⁴. Se realizó un cuestionario para evaluar las características demográficas y clínicas de los pacientes con infección recurrente, se realizaron tomas de muestras de sangre para determinar la concentración de inmunoglobulinas totales respectivamente IgG, IgA, e IgM¹⁵ y se determinaron las subclases de IgG mediante ELISA¹⁶. De

¹⁰ Uddin S, Borrow R, Haeney MR, Moran A, Warrington R, Balmer P, *et al.* Total and serotype-specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine* 2006;**24**:5637-5644

¹¹ Wasserman RL, Sorensen RU. Evaluating children with respiratory tract infections: the role of immunization with bacterial polysaccharide vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1999;**18**:157-163

¹² Zora JA, Silk HJ, Tinkleman DG. Evaluation of post immunization pneumococcal titers in children with recurrent infections and normal levels of immunoglobulin. *Ann Allergy* 1993;**70**:283-288.

¹³ Sorensen RU, Leiva LE, Javier FC, Sacerdote DM, Bradford N, Butler B, *et al.* Influence of age on the response to *Streptococcus pneumoniae* vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. *J Allergy Clin Immunol* 1998;**102**:215-221

¹⁴ Asghar Aghamohammadi, *et al.* Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. *American Journal of Otolaryngology* . 2008; Volume 29, Issue 6, Pages 385–392.

¹⁵ Cuilliere ML, Montagne P, Bessou T, *et al.* Microparticle-enhanced nephelometric immunoassay (Nephelia) for immunoglobulins G, A, and M. *Clin Chem* 1991;**37**:20-5.

¹⁶ Miles J, Riches P. The determination of IgG subclass concentrations in serum by enzyme-linked immunosorbent assay: establishment of age-related reference ranges for cord blood samples, children aged 5-13 years and adults. *Ann Clin Biochem* 1994;**31**(Pt 3):245-8.

los 103 pacientes del estudio 75 recibieron la vacuna conjugada contra el neumococo (NEUMO 23) y las muestras fueron tomadas antes y 21 días después de la vacunación. Los pacientes controles sanos se estudiaron para establecer un criterio normal para la respuesta a la vacuna antineumocócica 23- Valente. Estos pacientes no tenían historia de infecciones recurrentes ni inmunodeficiencias primarias o secundarias. Los anticuerpos específicos contra neumococo se determinaron mediante el protocolo de ELISA¹⁷.

Actualmente el tratamiento de los pacientes con deficiencias de anticuerpos específicos se encuentra enfocado en la terapia de reemplazo con inmunoglobulina intravenosa que es el pilar esencial en el tratamiento para a largo plazo disminuir la gravedad y frecuencia de las infecciones¹⁸.

Se ha logrado identificar que la presencia de infecciones a repetición se encuentra asociado a inmunodeficiencias primarias, debido a esto ha sido ampliamente estudiado el síndrome de infección recurrente que es una condición clínica que se caracteriza por la presencia de infecciones a repetición, curso inusual de estas , requiriendo hospitalizaciones prolongadas, infecciones por microorganismos oportunistas y alteraciones del desarrollo psicomotor. Uno de los principales microorganismos casuales de las infecciones es el neumococo una bacteria Gram positiva que es responsable de infecciones como neumonía, meningitis, sinusitis y otitis. Que se han encontrado en los pacientes con inmunodeficiencias primarias donde la más frecuente de estas es la deficiencia predominante de anticuerpos.

Se han realizado estudios de series de casos, donde se ha realizado inicialmente la valoración clínica de los pacientes mediante revisión documental de historias clínicas, como fue realizado en nuestra investigación. Para el estudio de estos pacientes se han utilizado métodos de evaluación del sistema inmune de baja y alta complejidad, iniciando desde un cuadro hemático, hasta la valoración de la inmunidad celular y humoral, mediante métodos como ELISA que es de utilidad porque permite identificar los anticuerpos específicos contra neumococo, nefelometría para determinar las concentraciones de inmunoglobulinas totales como se hace evidente en los diferentes estudios debido a que es el patrón de oro para su medición. Finalmente la determinación de las subpoblaciones de células B se realiza mediante citometría de flujo determinando así la frecuencia y el porcentaje de éstas, tal como lo evaluamos en nuestra investigación.

¹⁷ Wernette CM, Frasch CE, Madore D, *et al.* Enzyme-linked immune sorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. Clin Diagn Lab Immunol 2003;10: 514-9.

¹⁸ David Tuerlinckx *et al.* Pneumococcal Antibody Levels in Children With PID Receiving Immunoglobulin PEDIATRICS Volume 133, Number 1, January 2014

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las IDP son un grupo heterogéneo de alteraciones generalmente hereditario o congénito que afectan la inmunidad celular (Linfocitos T) y humoral (Linfocitos B) específica o los mecanismos de defensa no específicos del huésped como son las células fagocíticas, citocinas y proteínas del complemento.

Durante la infancia las infecciones recurrentes son consideradas una de las principales causas de múltiples consultas. Un diagnóstico bien orientado evita morbimortalidad, sobrecostos en los medicamentos y exámenes clínicos, angustia a la familia, pérdida de tiempo laboral y educativo por incapacidades y facilita el inicio de un tratamiento adecuado y oportuno. La recurrencia de las infecciones son debidas a factores que condicionan al individuo a un estado de predisposición facilitando la aparición de episodios infecciosos, donde la frecuencia de estos va a depender en la mayoría de los casos del estado inmune del paciente. El SIR es un ejemplo de cómo una infección puede prevalecer dependiendo de la susceptibilidad o la respuesta inusual que tenga el paciente; de este síndrome se sabe que no hay generación de una respuesta inmune efectiva, lo cual está asociado casi siempre con la presencia de IDP que no se ha diagnosticado y que altera la generación de una respuesta inmune adecuada.

La DAP dentro de las IDP es la más común, se pueden presentar desde deficiencias severas de todas las Ig a deficiencias específicas, que tiene relevancia clínica ya que incrementan la susceptibilidad a infecciones severas o recurrentes a diferentes patógenos como el *S. pneumoniae*. La respuesta inmune frente al neumococo, asociada a una alta mortalidad infantil, ha sido tomada como modelo para el análisis de la respuesta inmune específica puesto que es mediada por Ig, como la IgG contra los polisacáridos que induce la fagocitosis y la IgA que bloquea el ingreso del microorganismo al hospedero. Así mismo, se sabe que la subpoblación de LBm IgM, los cuales residen en la zona marginal ha sido relacionada con la defensa ante el neumococo.

En la mayoría de los casos se manifiestan durante el primer año de vida, no obstante, pueden presentarse a cualquier edad incluyendo los adultos¹⁹. Afectan individuos de ambos sexos. Sin embargo, en los menores de cinco años se presenta más en los varones con una relación 5:1 con respecto a las mujeres,

¹⁹ LIM, M., ELENITOBA, K. 2004. The Molecular Pathology of Primary Immunodeficiencies. Journal of Molecular Diagnostics 6: 59-83.

mientras que en los adultos la frecuencia es muy similar²⁰. La prevalencia es generalmente global y se presentan de 1: 10.000 nacidos vivos²¹.

Apartir de 1952, año en que Brutton describió por primera vez la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X, se han descrito por lo menos 200 formas distintas de inmunodeficiencia primaria. Los avances en la investigación médica han permitido la identificación de más de 140 genes responsables de los diferentes fenotipos que caracterizan a estos trastornos. Se han presentado múltiples clasificaciones de las inmunodeficiencias primarias y se han realizado bases de datos para registrar los pacientes que presentan estas patologías como es el caso de la sociedad europea de inmunodeficiencias que desarrollo una base de datos en línea en la que se captan los pacientes con inmunodeficiencias primarias y así se permite estimar la prevalencia aproximada. La base de datos de la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias arroja una esperanza de vida de 1 a 49 años, según el tipo de inmunodeficiencia. La prevalencia en los países que conforman la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias varía considerablemente, Francia tiene la tasa más alta: 3.7:100,000 habitantes²².

Algunos países desarrollan su registro de inmunodeficiencias primarias, como Irán, donde se han recabado 930 casos durante tres décadas en 16 centros. Se encontraron 40 inmunodeficiencias distintas, de las cuales las deficiencias de anticuerpos fueron las más comunes (38.4%), seguidas por la enfermedad granulomatosa crónica (17.8%), que es un defecto de la fagocitosis²³. En Australia y Nueva Zelanda se reporta una prevalencia que va de 4.9 a 12.4 por 100,000 habitantes, dependiendo de la región. El registro nacional de estos países incluye 1,209 pacientes de 88 centros. El 77% de los casos corresponde a deficiencias de anticuerpos; de éstas, la inmunodeficiencia común variable es el trastorno más reportado (38.4%). Las deficiencias de complemento siguen en orden de

²⁰ MONTOYA, C. 2004. Inmunodeficiencias Primarias. En: Rugeles y Patiño, P. (eds). Inmunología- Una Ciencia Activa.

²¹ Stiehm RE. The four most common immunodeficiencies. *Adv Exp Med Biol* (2007) 601:15–26. 10.1007/978-0-387-72005-0_2

²² Gathmann B, Grimbacher B, Beauté J, Dudoit Y, et al. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008. *Clin Exp Immunol* 2009;157(Suppl 1):3-11.

²³ Rezaei N, Aghamohammadi A, Moin M, Pourpak Z, et al. Frequency and clinical manifestations of patients with primary immunodeficiency disorders in Iran: Update from the Iranian Primary Immunodeficiency Registry. *J Clin Immunol* 2006;26:519-532.

frecuencia: angioedema hereditario, 4.5% de los casos, y la inmunodeficiencia combinada severa en 3.4%²⁴.

En Colombia con el fin de definir un tratamiento racional oportuno y orientar el diagnóstico molecular de las inmunodeficiencias primarias, se estableció un programa para el diagnóstico fenotípico de estas enfermedades en el departamento de Antioquia (Colombia), que comprende un análisis clínico y de laboratorio de los individuos que presentan infecciones recurrentes de evolución normal. Entre el 1 de agosto de 1994 y el 31 de julio de 2002 se hizo el diagnóstico fenotípico de inmunodeficiencia primaria en 98 pacientes²⁵, estableciéndose un protocolo para el diagnóstico y manejo de los pacientes con infección recurrente para realizar así el diagnóstico de inmunodeficiencias primarias mediante el estudio clínico y de laboratorio. El laboratorio de infección e inmunidad de la universidad Surcolombiana cuenta con los recursos materiales y humanos para realizar este tipo de estudios y así apoyar al diagnóstico de nuestros pacientes, generar bases de datos para la estimación de la prevalencia de las inmunodeficiencias primarias y lograr realizar tratamientos oportunos y efectivos evitando las complicaciones de los pacientes y así disminuyendo la morbimortalidad.

En el Huila, la consulta de infección recurrente del Hospital universitario se atiende un promedio de 12 niños por mes. A pesar de la relevancia que tienen este tipo de Enfermedades y de los avances en el diagnóstico que se han realizado en el país, en nuestro departamento aún falta el soporte inmunológico diagnóstico y de seguimiento adecuado, por tal motivo en el presente estudio se pretende caracterizar la respuesta humoral representada en el nivel de IgM, IgG e IgA total e IgG anti-neumococo sérica en niños con SIR y adicional se determinará la frecuencia de los LB ya que estas células son críticas en la respuesta inmune a este patógeno.

Es importante resaltar que las inmunodeficiencias primarias representan un impacto económico para las familias y los servicios de salud, como ha sido ampliamente documentado en diferentes estudios donde se evaluó la utilización de los recursos en términos de hospitalizaciones, visitas a urgencias, consultas externas, otros recursos como la asistencia médica, enfermería especializada, donde se evaluaron los pacientes que utilizan los servicios antes mencionados y la frecuencia de su utilización, un factor importante fue que muchos pacientes

²⁴ Kirkpatrick P, Riminton S. Primary immunodeficiency diseases in Australia and New Zealand. *J Clin Immunol* 2007;27:517-524.

²⁵ Montoya, Carlos Julio, Henao, Julieta, Salgado, Helí, Olivares, *et al.* Diagnóstico fenotípico de las inmunodeficiencias primarias en Antioquia, Colombia, 1994-2002. *Biomédica*; Vol 22, No 4 (2002); 510-8

presentaban comorbilidades debido a que el estudio se enfocó en pacientes adultos, diferente a nuestra investigación donde la población de estudio son pacientes pediátricos. Las infecciones que presentaban los pacientes con IDP generalmente presentaban manejo ambulatorio, algunas hospitalizaciones con una mediana de 1.38 y los gastos médicos relacionados con las infecciones a 7 meses que fue el periodo del estudio se encontraban en 11.925 \$ dólares. En total se estima un costo por hospitalizaciones desde el diagnóstico de IDP en aproximadamente 8.0000 dólares anuales.

Teniendo en cuenta la importancia que toma este tipo de enfermedades a nivel local, se espera poder apoyar al diagnóstico de los niños del Sur de Colombia, además determinar cuáles son las características de la inmunodeficiencia predominante de anticuerpos en los niños del sur colombiano que asisten a la consulta de infección recurrente en el Hospital Universitario de Neiva.

3. JUSTIFICACIÓN

Las inmunodeficiencias primarias generan un alto impacto en salud debido a que su principal manifestación clínica es el síndrome de infección recurrente y nuestros pacientes se enfrentan a condiciones clínicas en las cuales presentan complicaciones de sus patologías, largas estancias hospitalarias que aumenta su tasa de ausentismo escolar y disminución de la calidad de vida tanto para ellos como para sus cuidadores, perdiendo así su potencial humano debido a que generalmente son pacientes en edad pediátrica.

Nuestra investigación en las inmunodeficiencias primarias nos permite orientarnos a cómo realizar un diagnóstico clínico adecuado, a realizar una interpretación de exámenes de primera línea de manera correcta y así dirigir efectivamente el estudio de nuestros pacientes mediante centros más especializados como es el caso del laboratorio de infección e inmunidad de la universidad Surcolombiana, de esta forma podemos realizar un estudio completo de la inmunidad celular y humoral de nuestros pacientes con sospecha de inmunodeficiencias primarias.

La investigación en inmunodeficiencias primarias permite la identificación de las características clínicas de los pacientes, el estudio de estos es importante porque permite identificar factores de riesgo, antecedentes personales y familiares, desarrollo psicomotor del paciente que permite establecer el curso del desarrollo del paciente. Nuestra investigación permitió realizar el diagnóstico de los pacientes que presentaron síndrome de infección recurrente anormal.

El diagnóstico oportuno de los pacientes con inmunodeficiencias primarias por laboratorios especializados como es el laboratorio de infección e inmunidad de la universidad Surcolombiana permite una identificación oportuna de estas patologías y así lograr iniciar un tratamiento oportuno evitando las complicaciones que se pueden presentar en nuestros pacientes. Además que actualmente en Colombia existen pocos laboratorios que realicen pruebas inmunológicas específicas para el diagnóstico de pacientes con inmunodeficiencias primarias. Razón por la cual los pacientes se ven sometidos a estar por prolongados periodos en instituciones hospitalarias debido a las múltiples infecciones y complicaciones que presentan y alteran su calidad de vida.

Esto es debido a múltiples razones como la poca información sobre la presentación clínica de las inmunodeficiencias primarias, al acceso limitado a las pruebas diagnósticas debido a su disponibilidad y a los pocos laboratorios especializados que existen actualmente en el país.

El acceso oportuno a las pruebas especializadas de laboratorio brinda al personal médico herramientas para establecer un diagnóstico acertado que podría prevenir o por lo menos disminuir la estancia hospitalaria de los pacientes, evitando así las complicaciones, el impacto social y familiar, educativos, el aumento de los costos con relación a la demora en el diagnóstico y manejo adecuado.

Las razones previamente expuestas nos permiten evaluar nuestra labor como personal de la salud y nos permite revisar cuáles son las pruebas de laboratorio que nos orientan hacia la confirmación diagnóstica temprana de las inmunodeficiencias primarias, además de conocer ampliamente las características clínicas y todas las implicaciones que genera presentar una inmunodeficiencia primaria y de esta manera proporcionar una herramienta de consulta para llevar a cabo un diagnóstico más certero y un tratamiento oportuno y adecuado.

Los resultados de nuestra investigación permiten orientar hacia el diagnóstico de nuestros pacientes ya que en ellos encontramos cuáles son los criterios de como identificar un síndrome de infección recurrente anormal y cuál sería el protocolo a seguir en caso de que logremos la identificación de un caso. Mediante los métodos de laboratorio se logró realizar el estudio completo para poder diagnosticar las inmunodeficiencias primarias, que como lo menciona la literatura la más frecuente es la deficiencia predominante de anticuerpos siendo la más frecuente encontrada en nuestros pacientes.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las características clínicas e inmunológicas de los pacientes con síndrome de infección recurrente y niños voluntarios sanos del sur colombiano.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar las características sociodemográficas de los pacientes con síndrome de infección recurrente

Conocer las características clínicas de los pacientes con síndrome de infección recurrente

Establecer los niveles plasmáticos de inmunoglobulinas totales y anticuerpos IgG específicos para neumococo, así como determinar la frecuencia de subpoblaciones de linfocitos B de memorias circulantes en niños con infección recurrente y controles sanos.

5. MARCO TEÓRICO

Síndrome de infección recurrente. ²⁶El SIR es la manifestación de un proceso, la mayoría de las veces asintomático o subclínico, que resulta de la interacción repetida de un individuo con los agentes infecciosos que habitan en su ambiente ²⁷En el desarrollo normal del organismo, la repetida interacción con diversos antígenos permite que el sistema inmune genere respuestas efectivas contra los microorganismos; sin embargo, algunos trastornos del huésped hacen que ciertas infecciones no se controlen adecuadamente y se comporten de manera inusual, tanto por la frecuencia de ataque como por su severidad²⁸.

Varios autores consideran que un niño puede padecer hasta 6 infecciones virales por año durante los 3 a 5 años de vida, 6 a 10 episodios en las vías respiratorias de los lactantes, disminuyendo el número gradualmente a medida que avanza la edad hasta un promedio de 3 a 4 eventos por año en la etapa de adolescencia. Así un niño puede por lo tanto llegar a padecer hasta 100 episodios infecciosos en los primeros 10 años de vida.²⁹.

La alta frecuencia de las infecciones en los niños está relacionada con la inmadurez del sistema inmune, sin embargo, las infecciones a repetición pueden tomar un curso desfavorable para el individuo, por lo tanto el SIR se puede dividir de acuerdo a su comportamiento en los individuos como síndrome de infección recurrente normal SIRN o síndrome de infección recurrente anormal (SIRA). El SIRN es caracterizado por la presentación de episodios infecciosos de corta duración, leves y con frecuencia normal en la región, donde la resolución de la infección se da por los mecanismos homeostáticos e inmunológicos del individuo; mientras que el SIRA se caracteriza por un comportamiento anormal de interacción entre el huésped y los agentes infecciosos, que según su etiología es considerado como la expresión de trastornos de tipo inmunológicos primarios (congénitos o hereditarios) o secundarios (adquiridos), o no inmunológicos del

²⁶ García de O D, Patiño PJ, Salgado H, López JA, Montoya CJ, Pérez JE. Evaluación del paciente con inmunodeficiencia. Síndrome de infección recurrente patológica. Medicina y Laboratorio 1997; 7: 545-575.

²⁷ Enríquez LE, Orrego JC, Franco JL, Montoya CJ, Olivares MM, Salgado H. Caracterización epidemiológica de pacientes con inmunodeficiencias primarias en el Programa de Detección y Manejo del Síndrome de Infección Recurrente del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias- Universidad de Antioquia. Rev Inmunoal2005; 13:142-3.

²⁸ Wasserman RL and Sorensen RU. Evaluating children with respiratory tract infections: the role of immunization with bacterial polysaccharide vaccine. *PediatrInfectDis J* 1999;18:157- 63.

²⁹ García de OD, Montoya, CJ, Salgado, H et al. Sistema de vigilancia epidemiológica para el Síndrome de Infección Recurrente Patológico (SIRP). *Boletín Epidemiológico de Antioquia* 1995; 3:157-166.

huésped principalmente a defectos funcionales o anatómicos que predisponen a infecciones.

³⁰Los individuos que son considerados dentro del SIRA han sido analizados por medio de un protocolo desde el punto de vista clínico y de laboratorio, con el fin de aclarar el defecto de base que explique la anormalidad en la presentación de las infecciones y su posible tratamiento.

³¹La selección de pacientes sospechosos de padecer SIRA, ha sido claramente descrito por Montoya y col. como:

- El desarrollo de tres o más episodios infecciosos de etiología bacteriana o micóticas.

- Antecedente de hospitalización por infección moderada a severa en los últimos doce meses.

- Prolongación inusual de alguno de los episodios de acuerdo con lo establecido para las diferentes enfermedades infecciosas en la literatura especializada.

- Respuesta inadecuada al tratamiento anti-infeccioso empleado, de acuerdo con el diagnóstico clínico (o confirmado por el medio paraclínico apropiado, en las localidades que cuenten con este recurso).

- Identificación de un germen oportunista o inusual en la etiología de una enfermedad infecciosa, compromiso del sistema hematopoyético (trastornos hematológicos inusuales, severos y/o persistentes en el hemoleucograma, de acuerdo con la edad y la enfermedad del paciente)

- Aparición de secuelas y/o complicaciones.

³⁰ Montoya CJ, Salgado H, Olivares MM, Patiño PJ. Evaluación de la respuesta inmune en el paciente con infección recurrente sospechoso de padecer inmunodeficiencia. Salud UIS 2000; 32:105-11.

³¹ Montoya CJ, Henao J, Salgado H, Olivares MM, López JA, Rugeles C. Diagnóstico fenotípico de las inmunodeficiencias primarias en Antioquia, Colombia, 1994 - 2002. Bioméd2002; 22:510-518.

- Compromiso del desarrollo pondo estatural o psiconeurológico.
- Presencia de complicaciones secundarias a la aplicación de vacunas vivas (neumonía, parálisis flácida u otras)
- Enfermedad de injerto contra huésped después de una transfusión sanguínea.
- Presencia de proceso autoinmune asociado a la infección recurrente anormal
- Antecedentes familiares de: infección recurrente anormal, neoplasia hematológica, autoinmunidad o muerte en el primer año de vida por infección severa o desconocida.

³²El evento fundamental cuando se está ante un paciente con SIRA es establecer si presenta un defecto inmunológico de base que explique el desarrollo de infecciones severas. El conjunto de criterios mencionados anteriormente ha permitido el diagnóstico de IDP y secundarias, dando la posibilidad de prescribir un tratamiento oportuno y racional, con el objetivo de evitar recaídas y el desarrollo de secuelas, así como mejorar la calidad de vida del paciente y su familia.³³

En Colombia, se ha creado el programa de vigilancia epidemiológica *Detección y manejo del síndrome de infección recurrente-SIR* del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias de la Universidad de Antioquia; donde desde el inicio del programa en 1994 y hasta el 31 de julio de 2005, se habían evaluado más de 1.500 pacientes remitidos de diferentes centros regionales de atención por posible SIRA, lo cual ha permitido captar oportunamente los casos posibles de IDP con el fin de brindar un tratamiento adecuado. Sin embargo, en el sur de Colombia no se han hecho estudios que revelen la situación de las IDP y no se cuenta con el soporte diagnóstico adecuado.

³²Montoya CJ, Henao J, Salgado H, Olivares MM, López JA, Rugeles C. Diagnóstico fenotípico de las inmunodeficiencias primarias en Antioquia, Colombia, 1994 - 2002. *Bioméd* 2002; 22:510-518.

³³ Díaz MA, Sarrazola D, Orrego JC. Caracterización epidemiológica, clínica y de algunos parámetros inmunológicos del síndrome de infección recurrente en niños y adolescentes desplazados. *Asoc Colomb Infect* 2008; Vol 12 – 1

³⁴Inmunodeficiencias primarias. Las IDP son alteraciones genéticas de origen congénito o hereditario que comprometen cualquiera de los componentes básicos de la respuesta inmune contra los microorganismos: las células fagocíticas, el sistema del complemento, la inmunidad humoral específica o la inmunidad celular específica³⁵.

Este grupo heterogéneo de enfermedades en las que el sistema inmune no cumple alguna de sus funciones correctamente debido a la existencia de una alteración génica ha sido clasificado ampliamente de acuerdo al componente del sistema inmune que es alterado: innato o adaptativo³⁶. El desorden en la inmunidad adaptativa involucra los LB y LT, donde los LB van a mediar las alteraciones en cuanto a la producción de anticuerpos (deficiencia de anticuerpos), mientras que defectos generados en el desarrollo de los LT van a promover la inmunodeficiencia de células T (deficiencia celular e van a promover la deficiencia en células fagocíticas y alteraciones del complemento³⁷. Existen más de 150 enfermedades agrupadas bajo el nombre de IDP y aunque algunas de ellas tienen prevalencia muy bajas, otras son tan comunes como 1:250 nacidos vivos con DAP³⁸.

Estudios recientes han demostrado que a diferencia de lo que se pensaba, no son enfermedades raras y que estos pacientes consultan con frecuencia a médicos generales y especialistas, donde la manifestación clínica más importante es la infección recurrente; las características generales de ésta y otros hallazgos clínicos han sido útiles para orientar el diagnóstico específico de la inmunodeficiencia, sin embargo es necesario contar con un protocolo de análisis de laboratorio que permite un estudio más ágil y racional de los pacientes.

³⁹El 50% de las IDP es dada por DAP, un defecto en la producción de cantidades normales de anticuerpos específicos de antígenos, los cuales son indispensables

³⁴ Arkwright PD, and Gennery AR. Ten warning sings of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann N Y Acad Sci*2011; Nov;1238(1):7-14.

³⁵ McCusker C and Warrington R. Primary immunodeficiency. *AllerAsthm&ClinImmunol*2011; 7(Suppl 1):S11

³⁶ *Ibid.*, p.S11

³⁷ Boyle JM, and Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J ClinImmunol*2007; 27:497-502.

³⁸ García de O D, Patiño PJ, Salgado H, López JA, Montoya CJ, Pérez JE. Evaluación del paciente con inmunodeficiencia. Síndrome de infección recurrente patológica. *Medicina y Laboratorio* 1997; 7: 545-575.

³⁹ Driessen G, and Van der Burg M. Primary antibody deficiencies. *Eur J Pediatr*2011; 170:693–702

en la respuesta frente a patógenos y el defecto en la producción de estos resulta en infección severa o recurrente, ⁴⁰ donde el compromiso de un grupo de desórdenes va incrementar la susceptibilidad a infecciones del tracto respiratorio con bacterias como *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.⁴¹ DAP representa un espectro heterogéneo de condiciones que depende de la naturaleza del defecto en los LB, dicho espectro abarca desde deficiencias selectivas asintomática de IgA e IgG hasta agamaglobulinemias congénita severa en la que la producción de todos los isotipos de inmunoglobulinas están disminuidos. Adicionalmente se puede observar disminución drástica de LBm circulantes en algunos pacientes que presentan DAP.

⁴²Respuesta Inmune frente a *Streptococcus pneumoniae*. El neumococo es un diplococo Gram positivo aerófilo considerado como la principal bacteria que afecta el tracto respiratorio de los niños menores de cinco años y de los ancianos, dando origen a diversas patologías como otitis media, sinusitis, neumonía, meningitis y artritis séptica;⁴³ en nuestro país durante el 2011 el instituto nacional de salud consolidó un total de 112 casos confirmados de meningitis por esta bacteria. ⁴⁴Del desarrollo de la infección se sabe que está relacionado con pacientes que padecen algún tipo de IDP, los cuales son incapaces de generar o mantener una respuesta inmune óptima frente a esta bacteria, por ejemplo pacientes que presentan infecciones serias o recurrentes con neumococo u otras bacterias encapsuladas pueden presentar SIRA⁴⁵.

Dentro de la población de niños que presentan SIRA, puede presentarse deficiencia en la generación de anticuerpos específicos y/o defectos en la inmunidad medida por células. ⁴⁶Normalmente, la respuesta inmune contra los componentes del neumococo es diferente, sin embargo tradicionalmente a los

⁴⁰ Op., cit. p.11

⁴¹ Driessen G, and Van der Burg M. Primary antibody deficiencies. Eur J Pediatr 2011; 170:693–702

⁴² Musher DM. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. Clin Infect Dis 1992; 14:801-809.

⁴³ (Instituto Nacional de Salud Boletín epidemiológico semanal, semana 51)

⁴⁴ Picard C, Puel A, Bustamante J, Ku CL, Casanova JL. Primary immunodeficiencies associated with pneumococcal disease. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2003;3:451–9.

⁴⁵ Thiel J, et. al. Rump J, Hiesler M. Genetic CD21 deficiency is associated with Hypogammaglobulinemia. J Allergy Clin Immunol 2011; XXX.

⁴⁶ Pecanha LM, Snapper C, Finkelman F, Mond J. Dextran-conjugated anti-Ig antibodies as a model for T cell-independent type 2 antigen-mediated stimulation of Ig secretion in vitro. I. Lymphokine dependence. J Immunol 1991; 146:833-9

polisacáridos capsulares se les ha considerado antígenos timo independientes del tipo 2 (Ti-2); esto significa que estos antígenos no son presentados en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) y también que la ayuda requerida por parte de las células B para la producción de estos anticuerpos es mínima.⁴⁷ Estudios en animales han desafiado este concepto mostrando que la expresión del CD40L en los linfocitos T CD4+ es esencial para la síntesis de IgM e IgG contra los polisacáridos.⁴⁸ Al parecer, la presentación de estos polisacáridos por moléculas CD1 es posible y se ha visto que células dendríticas tratadas con la bacteria completa pueden promover la síntesis de ciertos subtipos de IgG contra los polisacáridos cuando son transferidas a otros ratones.⁴⁹ CD40L es también expresado por células dendríticas y⁵⁰ es posible que este sea un mecanismo para no depender totalmente de la presencia de células T.

⁵¹ Se conoce que los anticuerpos IgG contra los polisacáridos confieren protección contra infecciones invasivas por el neumococo. Anticuerpos IgG1 e IgG2 confieren protección contra serotipos específicos del neumococo⁵² opsonizando el microorganismo y facilitando la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos⁵³. Individuos que presentan inmunodeficiencia de IgG2 o de anticuerpos específicos anti-polisacáridos son susceptibles de padecer infección neumocócica,⁵⁴ también niños que presentan una mayor respuesta de IgG1 que de IgG2 tienen mayor tendencia a padecer de infecciones frecuentes por esta bacteria.

⁴⁷ Jeurissen A, Wuyts A, Kasran A, Ramdien-Murli S, Boon L, Cauppens JL, Bossuyt X. Essential role for CD40 ligand interactions in T lymphocyte-mediated modulation of the murine immune response to pneumococcal capsular polysaccharides. *J Immunol*1991; 168:2773-81.

⁴⁸ Colino J, Shen Y, Snapper C. Dendritic cells pulsed with intact *Streptococcus pneumoniae* elicit both protein- and polysaccharide-specific immunoglobulin isotype responses in vivo through distinct mechanisms. *J Exp Med* 2002; 195:1-13.

⁴⁹ Pinchuk LM, Klaus SJ, Magaletti DM, Pinchuk GV, Norsen JP, Clark EA. Functional CD40 ligand expressed by human blood dendritic cells is up-regulated by CD40 ligand. *J Immunol*1996; Nov 15;157(10):4363-70.

⁵⁰ Wykes M and MacPherson G. Dendritic cell-B-cell interaction: dendritic cells provide B cells with CD40-independent proliferation signals and CD40-dependent survival signals. *Immunol*2002; 100:1-3.

⁵¹ Freijd AL, Hammarström M, Persson, Smith C. Plasma pneumococcal antibody of the IgG class and subclasses in otitis prone children. *ClinExpImmunol*1984; 56:233-38.

⁵² Gordon S, Irving G, Lawson R, Lee M, Read R.. Intracellular trafficking and killing of *Streptococcus pneumoniae* by human alveolar macrophages are influenced by opsonins. *Infect Immun*2000; 68:2286-93.

⁵³ Sorensen R U, Leiva L, Giangrosso P, Butler B, Sacerdote DM, Bradford N, Moore C. Response to a heptavalent conjugate *Streptococcus pneumoniae* vaccine in children with recurrent infections who are unresponsive to the polysaccharide vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17:685-91.

⁵⁴ Rodríguez JA, Salgado DG, Saiz A. Specific pneumococcal antibodies in a population of children with recurrent infections from Neiva, Huila, Colombia. *J Trop Pediatr*2004; 50:309- 11.

⁵⁵Por otra parte, anticuerpos IgA anti-polisacáridos pueden ser efectivos a nivel de las mucosas y por tanto tener actividad contra los serotipos causantes de otitis media y la neumonía. La IgA en combinación con componentes del complemento ayuda a la opsonización y a la fagocitosis del neumococo. ⁵⁶Más aún, fragmentos de C3d del complemento asociados a polisacáridos se ha encontrado que fijan CD21 (receptor CR2) en las células B. ⁵⁷El CD21 se expresa en los linfocitos B y en las células dendríticas foliculares en la zona marginal del bazo, ⁵⁸ células que están ausentes en pacientes que sufren de anemia de células falciformes o de esplenectomía, condiciones que predisponen a las infecciones neumocócicas.

⁵⁹Para el control y prevención de la infección por neumococo se ha descrito que la respuesta inmune secundaria juega un papel importante y depende de la memoria inmunológica. Tres condiciones son importantes para la definición de memoria B: 1. El encuentro con el antígeno, 2. La persistencia en el tiempo y 3. La dependencia de la ayuda T en el centro germinal. Sin embargo, recientemente se ha sugerido que algunos LBm pueden ser generados independiente de los centros germinales. Los LBm circulantes han sido separados clásicamente en 3 grupos, el primero llamado LBm conmutada (IgM- IgD- CD27+) el segundo llamado LBm CD27- (IgM-, IgD-, CD27-) y finalmente LBm IgM (IgM+ IgD+ CD27+). ⁶⁰Los LBm IgM circulantes, son fenotípicamente similares a los LB de la zona marginal del bazo. Pacientes esplenectomizados o con asplenia congénita tienen menor frecuencia de esta población. Las dos anteriores características hacen pensar que el bazo (zona marginal) es crítico en la generación y/o supervivencia de esta particular población de LBm. Además, deficiencias en la frecuencia de los LBm IgM se ha observado en otras inmunodeficiencias primarias humorales y está asociada con un incremento en la susceptibilidad a la infección por neumococo.

⁵⁵ Janoff EN, Fasching C, Orenstein JM, Rubins JB, Opstad NL, Dalmasso AP. Killing of *Streptococcus pneumoniae* by capsular polysaccharide-specific polymeric IgA, complement, and phagocytes. *J Clin Invest* 1999; 104:1139-47

⁵⁶ Griffioen A, Rijkers G, Janssens-Korpela P, Zegers B.. Pneumococcal polysaccharides complexed with C3d bind to human B lymphocytes via complement receptor type 2. *Infect Immun* 1991; 59:1839-45.

⁵⁷ PesetLopis M, Harmans G, Hardonk M, Timens W. Human immune response to pneumococcal polysaccharides: complement-mediated localization preferentially on CD21- positive splenic marginal zone B cells and follicular dendritic cells. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97:1015-24.

⁵⁸ Thiel J, et.al. Genetic CD21 deficiency is associated with Hypo gamma globulinemia. *J Allergy Clin Immunol* 2011; XXX.

⁵⁹ Wirths S and Lanzavecchia A. ABCB1 transporter discriminates human resting naive B cells from cycling transitional and memory B cells. *Eur J Immunol* 2005; Dec;35(12):3433-41

⁶⁰ Carsetti R, Pantosti A, Quinti I. Impairment of the antipolysaccharide response in splenectomized patients is due to the lack of immunoglobulin M memory B cells. *J Infect Dis* 2006; Apr 15;193(8):1189-90.

⁶¹En resumen, hasta el momento es claro que la respuesta frente al neumococo depende de forma crítica en la presencia de una respuesta de tipo humoral, donde la generación de anticuerpos específicos y la generación de LBm IgM son determinantes puesto que el incremento en la frecuencia de la infección por neumococo de niños, ancianos y pacientes esplenectomizados puede ser debida a la disminución de LBm IgM circulantes.

⁶¹ Uddin S, Borrowb R, Haeney M, Moranc A, Warrington R, Balmer P, Arkwright PD. Total and serotype-specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine*2006; 24:5637–5644

6. HIPOTESIS

El síndrome de infección recurrente normal en pacientes en edad pediátrica, puede ser una manifestación de inmunodeficiencias primarias principalmente la deficiencia predominante de anticuerpos en un 58% donde la principal manifestación clínica es infecciones a repetición por bacterias encapsuladas como el neumococo.

7. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	SUB-VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADOR	NIVEL DE MEDICIÓN
Características sociodemográficas	Edad	Periodos en que se considera dividida la vida de una persona. Una división común de la vida de una persona por edades es la de bebé, niño, púber, adolescente, joven, adulto, mediana edad y tercera edad.	Número de años	Numérico
Características sociodemográficas	Sexo	Condición orgánica que distingue al macho de la hembra en los seres humanos.	Masculino Femenino	Nominal
Características clínicas	Diagnósticos	Procedimiento por el cual se identifica una enfermedad, entidad nosológica, síndrome, o cualquier condición de salud-enfermedad.	Infecciones	Nominal
Características clínicas	Hospitalizaciones	Ingreso de una persona a un hospital y período de tiempo que pasa en él.	Número de hospitalizaciones	Nominal
Características clínicas	Tratamiento	Conjunto de medidas y acciones terapéuticas o higiénicas, que se ponen en práctica para la curación o el alivio de las enfermedades.	Tipo de tratamiento	Nominal

Concentración plasmática de Inmunoglobulinas totales	Concentración plasmática de Inmunoglobulinas totales en niños sanos y con SIRA	Concentración plasmática de Inmunoglobulinas totales en niños con infección recurrente anormal y niños voluntarios sanos.	µg/ml de Ig totales	Numérico
Concentración plasmática de anticuerpos IgG específicos	Concentración plasmática de anticuerpos IgG específicos en niños sanos y con SIRA	Concentración plasmática de anticuerpos IgG específicos para polisacáridos de neumococo en niños con infección recurrente y compararlos con los de los niños sanos	µg/ml	Numérico
Frecuencia de subpoblaciones de Lb de memoria	Comparar la frecuencia de subpoblaciones de Lb de memoria en niños sanos y con SIRA	Subpoblaciones de Lb de memoria conmutada, IgM, CD27, Vírgenes en pacientes con infección recurrente y compararlos con los de los niños sanos	µg/ml	Numérico
Inmunodeficiencia predominante de Ac totales y/o selectiva	Inmunodeficiencia predominante de Ac totales y/o selectiva en niños sanos y con SIRA	Las inmunodeficiencias primarias son deficiencias congénitas o hereditarias de los componentes básicos del sistema inmune donde la más frecuente es la deficiencia predominante de anticuerpos.	µg/ml	Numérico

8. DISEÑO METODOLOGICO

8.1 TIPO DE ESTUDIO

Este proyecto de investigación es un estudio observacional descriptivo y retrospectivo de serie de casos con dos grupos de comparación. Es observacional, puesto que su objetivo solo es obtener información de la población, sin la intervención directa sobre la misma; es descriptivo debido a que busca describir la distribución de diferentes variables y se estudian situaciones que ocurren en condiciones naturales, más que en situaciones experimentales. Es retrospectivo porque se realiza la recolección de datos a partir de las historias clínicas donde revisamos situaciones de exposición a factores sospechosos. De serie de casos porque se busca describir el cuadro clínico de la patología de los pacientes, métodos diagnósticos y tratamiento.

8.2 UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en el servicio de pediatría del hospital universitario Hernando Moncaleano Perdomo de la ciudad de Neiva, centro de atención hospitalaria de tercer nivel y centro de referencia para la zona sur de Colombia, comprendido por los departamentos de Caquetá, Putumayo, Amazonas y parte sur del departamento del Tolima y Cauca.

8.3 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

8.3.1 Población. La población de estudio fueron niños con infecciones a repetición en edad comprendida entre 2 y 13 años que consultaron al servicio de infección recurrente del hospital universitario de Neiva. Niños voluntarios sanos entre 1 y los 12 años de edad provenientes de una institución educativa de la ciudad de Neiva.

8.3.2 Muestra. Se utilizó una muestra de tipo no representativa por probabilidad, de sujetos voluntarios, donde se seleccionaron 15 niños entre 2 y 13 años de edad; con síndrome de infección recurrente anormal, criterios definidos por el comité internacional de inmunodeficiencias primarias, 20 niños clínicamente sanos de edades entre los 1 y 12 años, sin presencia de infección recurrente y con un examen físico normal

8.3.3 Muestreo. Se realizó un muestreo de tipo no probabilístico de sujetos voluntarios, por conveniencia, de 15 niños entre 2 y 13 años de edad; con síndrome de infección recurrente anormal, criterios definidos por el comité internacional de inmunodeficiencias primarias, 20 niños en edades entre 1 y 12 años, clínicamente sanos y con un examen físico normal.

8.4 TECNICAS

En esta investigación se utilizaron técnicas de revisión documental de historias clínicas registrando los datos en el formulario y mediciones biofisiológicas in vitro de los pacientes del estudio, donde a partir de muestras de sangre venosa periférica se cuantificaron las concentraciones plasmáticas de inmunoglobulinas totales IgG, IgM e IgA por nefelometría y la IgG específica anti-neumococo fue evaluada por técnica de ELISA. Adicional mediante citometría de flujo se determinaron las subpoblaciones de LB empleando los marcadores celulares CD19, CD27 e IgD.

8.5 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCION DE DATOS

Se realizó la Identificación de los 15 pacientes con síndrome de infección recurrente que asisten a la consulta del hospital universitario de Neiva según los criterios del comité internacional de inmunodeficiencias primarias y se seleccionaron 20 niños controles sanos procedentes de una unidad educativa de la Ciudad de Neiva estos pacientes no presentaban inmunodeficiencias secundarias y con examen físico y paraclínicos normales al momento de la obtención de la muestra de sangre venosa total, con previa aceptación y firma del consentimiento informado por parte de los padres o acudientes. Esta población fue pareada en edad y sexo con la población de infección recurrente. Se generó una base de datos con los pacientes, se solicitaron las historias clínicas para la revisión de las características clínicas de los pacientes, diagnósticos y tratamiento, se diligencio el formulario para la recolección de la información obteniendo datos sobre edad, sexo, pre y post vacunación, criterios SIRA, diagnósticos, antibióticos recibidos, hospitalizaciones, vacunación, paraclínicos y tratamiento.

Se realizó la debida capacitación en el laboratorio de inmunología de la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana que contaba con los recursos materiales y de infraestructura necesarios para la realización de la investigación, sobre las técnicas de laboratorio que se utilizaron en el desarrollo de esta investigación y la elaboración de un protocolo para la medición de las concentraciones plasmáticas de anticuerpos específicos por medio de la técnica de ELISA con todas las

medidas de bioseguridad correspondientes a este estudio. Se determinó la concentración de IgM, IgG e IgA total mediante nefelometría. Se realizó la estandarización de la tinción por citometría de flujo multiparamétrica en CMSP, fue empleada en los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión establecidos.

Finalmente se realizó la determinación de la frecuencia y porcentaje de las subpoblaciones de LB circulantes se hará por citometría de flujo multiparamétrica en CMSP, empleando inicialmente los marcadores celulares CD19, CD27 e IgD identificando la frecuencia típica de 4 subpoblaciones de linfocitos B circulantes: linfocitos B vírgenes (CD19+, CD27-, IgD+), LBm conmutada (CD19+, CD27+, IgD-), LBm IgM (CD19+, CD27+, IgD+) y LBm CD27- (CD19+, CD27-, IgD-), finalmente se registraron los resultados en nuestra base de datos .

8.6 PLAN DE TABULACION Y ANALISIS DE DATOS

Los datos obtenidos a partir de la revisión documental registrados en el formulario se almacenaron en hojas de cálculo del programa Microsoft office Excel 2007 del paquete de Microsoft office 2007; las cuales representaron la base de datos del estudio y fueron la referencia de información a evaluar en nuestra investigación. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el software GraphPad Prism versión 5.0, en el cual se usaron pruebas no paramétricas para la realización de comparaciones entre los grupos a evaluar, para el análisis de grupos independientes se utilizó la prueba de Mann-Whitney, para determinar el grado de correlación entre las variables se utilizó el Test de Fisher. Una $P < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa en todos los casos. Se calcularon medidas de tendencia central y dispersión para las variables continuas.

8.7 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Esta investigación será realizada según las disposiciones generales consagradas en la resolución 8430 de 1993, por las cuales se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud y la cual según el artículo 11 de la misma, clasifica esta investigación con riesgo mínimo debido a que son estudios prospectivos que emplean el registro de datos a través de procedimientos comunes consistentes en: exámenes físicos o psicológicos de diagnóstico o tratamientos rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, electrocardiogramas, pruebas de agudeza auditiva, termografías, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, recolección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva,

dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimientos profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml en dos meses excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas. Por lo cual esta investigación se considera sin riesgo de acuerdo al párrafo primero del artículo 16 de la resolución 8430 de 1993, no necesita la aplicación de un consentimiento informado ni el sometimiento ante el comité de ética médica, debido a que no se realizara intervención directa en la población a estudio.

Esta investigación clasificada como de riesgo mínimo cumple las disposiciones explícitas en los artículos 14, 15 y 16 de la resolución 8430 de 1993, con lo referente a la aplicación de un consentimiento informado a la población de estudio, que será sometido a evaluación ante el comité de ética médica de la facultad de salud de la universidad Surcolombiana, según la normatividad establecida. (Ver anexo)

Este estudio no presenta conflicto de intereses.

9. RESULTADOS

En este trabajo se evaluaron 15 pacientes con infección recurrente y 20 pacientes voluntarios sanos, y a partir de la caracterización sociodemográfica y clínica, se estableció que 6 de los pacientes con SIR presentaban síndrome infección recurrente anormal (SIRA). Adicional, al evaluar los niveles de Inmunoglobulinas totales en los pacientes sanos vs SIR no se encontraron diferencias significativas para la edad, igual que en las subpoblaciones de LBm. Finalmente, al establecer los niveles específicos de IgG se encontraron valores protectores para el 90% de los pacientes con SIR en la mayoría de los serotipos evaluados, mientras que el 10% de los pacientes con SIR mostro títulos inferiores al nivel protector establecido, adicional se estableció que el 13.3% de los pacientes con SIR tienen DPA .

9.1 CARACTERISTICAS SOCIODEMOGRAFICAS Y CLINICAS DE LOS PACIENTES CON INFECCION RECURRENTE Y VOLUNTARIOS SANOS

La distribución por género y edad se realizó en los dos grupos de estudio, en el caso de los pacientes con SIR, el rango de edad fue de 1 y 11 años, con una mediana de 3,5 y los voluntarios sanos entre 1 y 12 años, con una mediana de 4.5. Con respecto al género, el 65% (13 pacientes) correspondieron al género masculino y el 35% (7 pacientes) al género femenino en grupo SIR, mientras que para los sanos el 55% (11 pacientes) correspondieron al género masculino y el 45% (9 pacientes) al género femenino como lo muestra el cuadro 2.

Se realizó la evaluación de las características clínicas de los pacientes, donde el 30% de los pacientes presentaron síndrome de infección recurrente anormal, comparado con el 70 % que no presentaba criterios para este como presencia de tres o más episodios infecciosos en el último año, dos o más episodios infecciosos moderados a graves en los últimos 60 días, una infección prolongada más de lo usual para el cuadro con o sin tratamiento, una o más hospitalizaciones en el último año para el control de una enfermedad infecciosa. El diagnóstico más frecuente encontrado en los pacientes con SIR fue otitis media recurrente con un 35%, gastroenteritis 30%, Neumonía 25%, y por último sinusitis con el 20%. Los pacientes con SIR presentaron un rango de hospitalizaciones entre 1 y 20 veces y una mediana de 3. Se encontró que el 90% de los pacientes recibieron antibióticos donde los más usados fueron amoxicilina y ceftriaxona. El 40% de los pacientes presentaron leucocitosis al realizarse la toma del cuadro hemático.

Cuadro 1. Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con infección recurrente y voluntarios sanos.

Datos generales	SIR (n=15)	VS (n=20)
Edad (años)	5 (2-13)*	4.5 (1-12)*
Sexo	13 M / 7 F	11 M / 9 F
Hospitalizaciones	3 (1-20) *	0
Diagnósticos	Otitis media recurrente (35%), gastroenteritis (30%), Neumonía (25%), Sinusitis (20%).	Ninguna
Antibióticos	90% (Amoxicilina 27,7% y ceftriaxona 27,7%)	Ninguno
Cuadro hemático	Leucocitosis 40%	Ninguno
SIRA	6 (40%)	0

Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos.

M (Masculino)

F (Femenino)

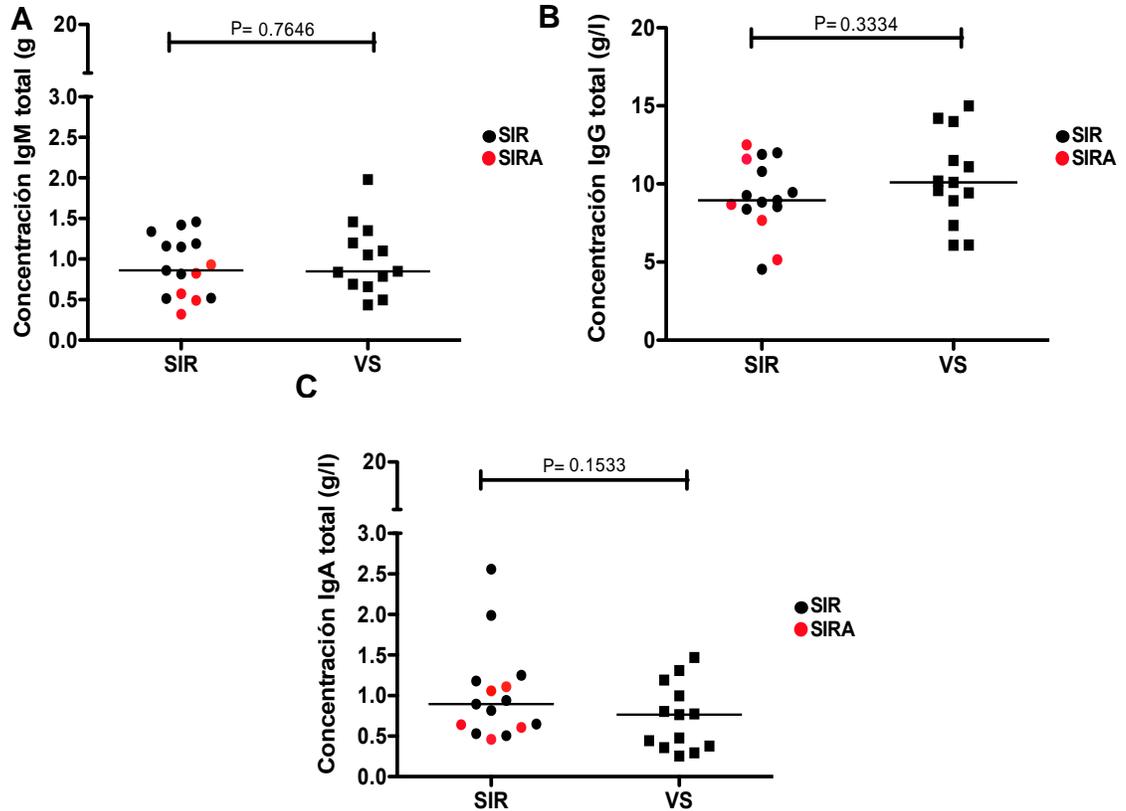
*Mediana (Rango)

+Mann-Whitney

9.2 CONCENTRACION DE INMUNOGLOBULINAS TOTALES IgM, IgG e IgA EN NIÑOS CON SIR Y NIÑOS SANOS

Con el fin de establecer si en los grupos de estudio existían variaciones en la concentración plasmática de inmunoglobulinas totales, se realizó la medición de Inmunoglobulinas totales IgM, IgG e IgA y se encontró que no hay disminución en los niveles de estas en los pacientes son SIR y voluntarios sanos como se observa en la figura 1.

Figura 1. Concentración de inmunoglobulinas totales.



Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos.

Los pacientes SIR (puntos negros), SIRA (puntos rojos) y VS (voluntarios sanos), se analizaron por nefelometría. Fig. 1 A. Concentración de IgM total (g/l), Fig. 1 B. Concentración de IgG total (g/l), Fig. 1 C. Concentración de IgA total (g/l).valor de P corresponde al test de Mann-Whitney

Al comparar los niveles plasmáticos de IgM, IgG e IgA en los pacientes con SIR con los valores de referencia por edad (referencia), se encontró que no hay variación según el grupo de edad correspondiente (cuadro 3). Los resultados obtenidos, muestran que en el grupo SIR el valor máximo para IgM fue de 146 mg/dl y el mínimo de 49 mg/dl con una mediana de 134 mg/dl, en el caso de IgG se encontró un valor máximo de 1250 mg/dl y mínimo de 516 mg/dl con una

mediana de 896 mg/dl, y para IgA el valor máximo fue de 25.6 mg/dl y el mínimo de 50.5 g/l con una mediana de 146,5 mg/dl (cuadro 3).

Cuadro 2. Concentración sérica de Inmunoglobulinas totales IgM, IgG e IgA (g/l) en niños con SIR y niños sanos. Faltan los valores de referencia por edad.

SIR	EDAD	IgG (mg/dl)	Valor normal (mg/dl)	IgA (mg/dl)	valor normal (mg/dl)	IgM(mg/dl)	valor normal(mg/dl)
1	4	1080	295-1,156	125	29-256	119	37-224
2	4	855	295-1,156	64.9	29-256	146	37-224
3	2	454	295-1,156	46.1	27-246	32	37-184
4	3	1160	295-1,156	89.6	27-246	116	37-184
5	3	883	295-1,156	50.5	27-246	115	37-184
6	4	839	295-1,156	118	29-256	51.3	37-224
7	5	927	386-1,470	53.2	29-256	51.9	37-224
8	4	768	295-1,156	111	29-256	93	37-224
9	4	1250	295-1,156	106	29-256	57.1	37-224
10	3	896	295-1,156	81.6	27-246	142	37-184
11	13	1200	503-1,719	25.6	52-319	81.5	41-255
12	3	516	295-1,156	64.1	27-246	49	37-184
13	6	1190	386-1,470	199	29-256	86.1	37-224
14	8	947	462-1,682	94	34-274	134	38-251
15	4	869	295-1,156	60.8	29-256	82.4	37-224

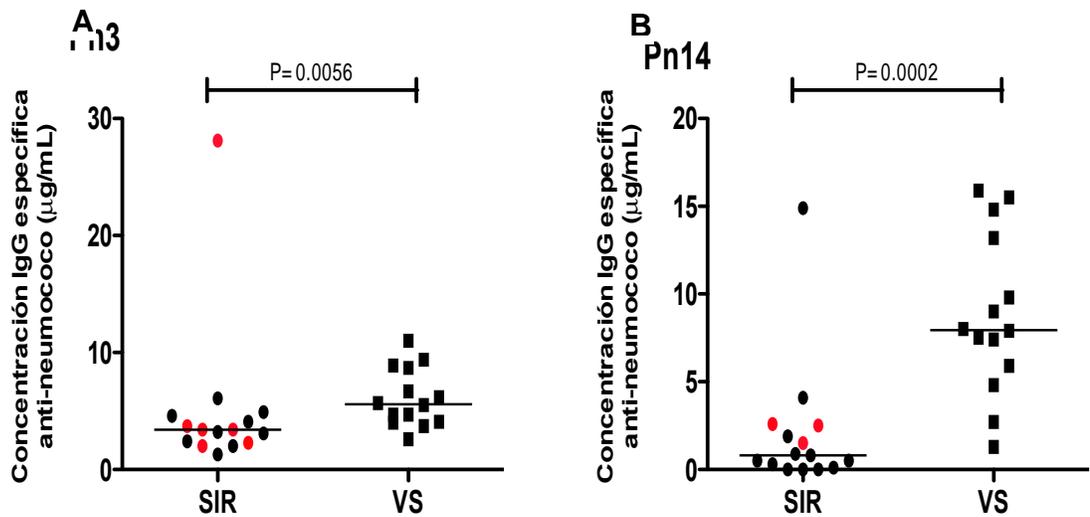
Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos.

9.3 CONCENTRACION IgG ESPECIFICA PARA POLISACARIDOS 1,3,4,5, 6B,9V,14, 18 C, 19F Y 23F .DE NEUMOCOCO EN NIÑOS CON SIR VERSUS NIÑOS SANOS.

Teniendo en cuenta que dentro de las IDP la DPA es la más frecuente, se determinó la concentración de IgG anti-neumocócica para 10 serotipos de este microorganismo. Los resultados obtenidos para dos de los 10 polisacáridos evaluados, Pn3 y Pn14 que se han sido asociados con menor y mayor repuesta respectivamente se observan en la figura 2. De los 15 pacientes incluidos en el grupo SIR, 9 pacientes presentan títulos de anticuerpos inferiores al nivel de protección establecido para el serotipo Pn14, siendo el serotipo de menor repuesta con una mediana de 0.8 para los pacientes analizados. Para el serotipo

Pn3 se encontró que 14 de los 15 pacientes SIR, presenta concentraciones cercanas o inferiores a 5 $\mu\text{g/ml}$, que es asociado a niveles protectores, pues estos son iguales o superiores al límite establecido ($>1.3 \mu\text{g/ml}$).

Figura 2. Concentración de anticuerpos contra los polisacáridos de neumococo Pn3 y Pn14 en pacientes SIR y VS



Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos

La concentración de IgG específica anti-neumococo ($\mu\text{g/ml}$) se estableció por ELISA para el serotipo Pn3 (A) y Pn14 (B). Los puntos negros corresponden al grupo SIR, los puntos rojos al grupo SIRA. Valor de P determinada mediante el testMann Whitney.

La tabla 1 muestra el resumen de los 10 polisacáridos evaluados en los pacientes con SIR y voluntarios sanos, donde se observa una disminución estadísticamente significativa en los serotipos evaluados en los pacientes SIR, presentando títulos de anticuerpos inferiores al nivel de protección establecido, como es el caso de los serotipos Pn14, Pn4, Pn9V y Pn23F que tienen valores con una p significativa <0.05 .

Tabla 1. Concentración IgG específica anti neumococo (ug/ml).

Serotipo	SIR	VS	Valor P*
Pn 1	6.3	14.2	0.0636
Pn 3	3.4	5.6	0.0143
Pn 4	1.3	4.0	0.0035
Pn 5	4.5	9.5	0.0587
Pn 6B	5.2	9.9	0.0687
Pn 9V	1.6	3.3	0.0005
Pn 14	0.8	7.9	< 0.0001
Pn 18C	2.9	3.8	0.4207
Pn 19F	4.7	6.6	0.2481
Pn 23F	2.1	8.2	0.0002

*Valor de P test Mann-Whitney

Fuente: Base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos.

Además se encontró que el 13.3% de los pacientes con SIR presentan concentraciones 1.3 µg/ml en el 50% de los serotiposevaluados, sugiriendo que estos pacientes presentan unainmunodeficiencia primaria por deficiencia de anticuerpos específicos, debido a que no presentan títulos protectores de anticuerpos frente a los polisacáridos de neumococo lo que hace evidente una falla en la respuesta humoral del sistema inmune y el 86,7% de los pacientes presentaron concentraciones >1.3 µg/ml (cuadro (4)).

Cuadro 3. Títulos de anticuerpos ($\mu\text{g/ml}$) en pacientes SIRA y VS.

DPA	SIR	VS	TOTAL
>1.3 $\mu\text{g/ml}$ (50% serotipos)	13	15	28
1.3 $\mu\text{g/ml}$ (50% serotipos)	2	0	2
TOTAL	15	15	30

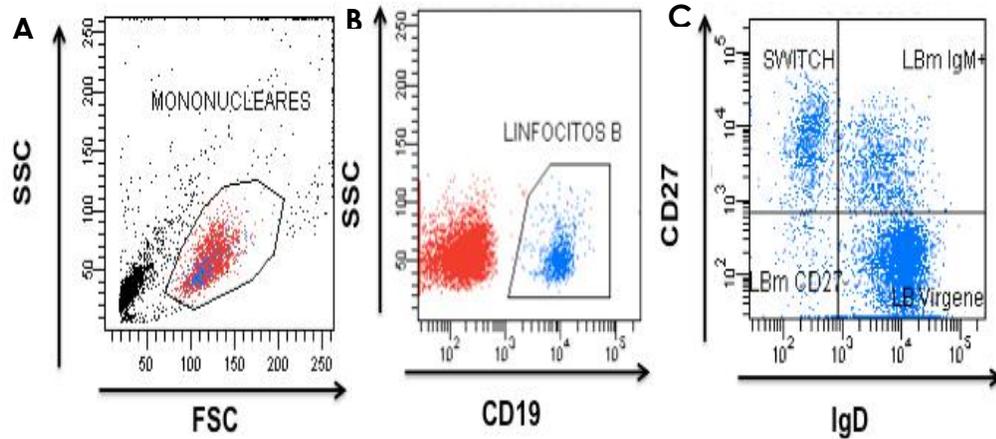
P= 0.4828 Test de Fisher

Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos

Frecuencia y porcentaje de las subpoblaciones de linfocitos B de memoria

Los LBm son críticos para el mantenimiento de la inmunidad humoral y en especial una subpoblación de LBm que expresan IgM, ha sido relacionada con la defensa ante el neumococo, por este motivo se determinó la frecuencia y porcentaje de LBm circulantes. Inicialmente, a partir de CMSP se realizó la estandarización de la tinción para establecer por citometría de flujo las subpoblaciones de LB como se observa en la figura 3. Empleando el marcador CD19 a partir de la población de linfocitos obtenida mediante un gradiente de densidad y escogida en FSC vs SSC se estableció la población de LB, y teniendo en cuenta la expresión de CD27 e IgD se ubicaron las subpoblaciones de LB y LBm: LB vírgenes (IgD+CD27-), LBm IgM+ (IgD+CD27+), LBm conmutada (IgD-CD27+) y LBm CD27- (IgD- CD27-) como se observa en el panel C de la figura 3.

Figura 3. Inmunofenotipificación de células B.

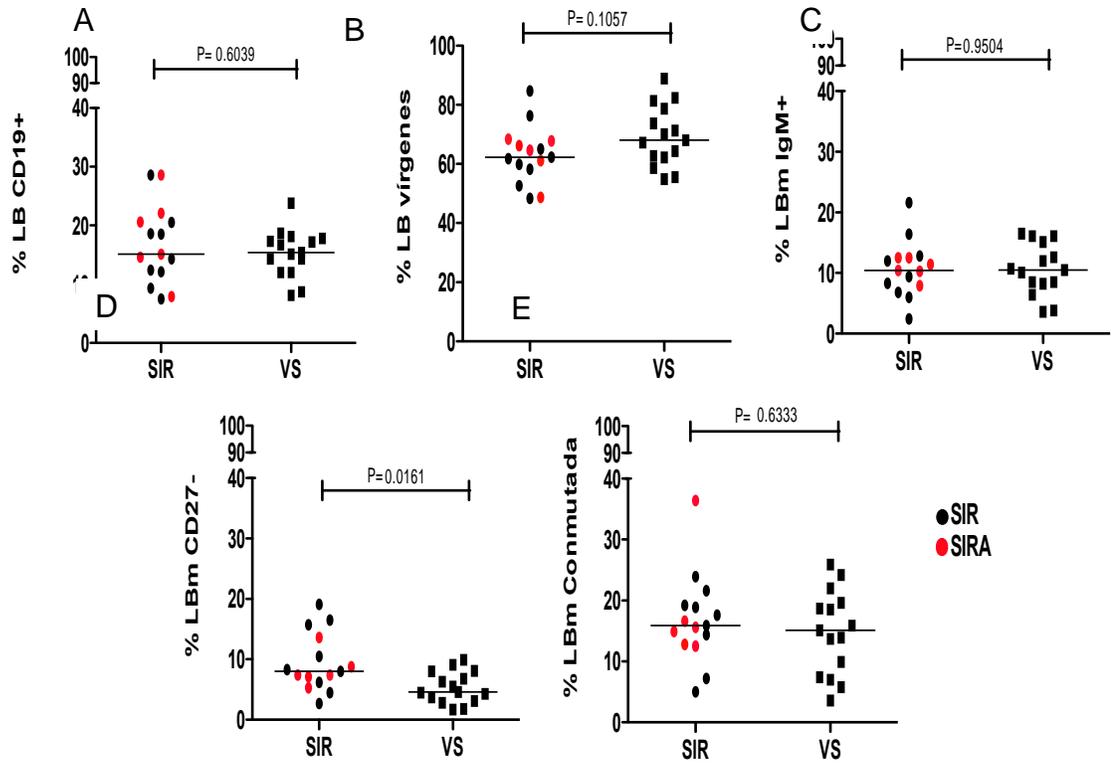


Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos

. Análisis de complejidad (side scatter - SSC) Vs tamaño (forward scatter – FSC) en células mononucleares de sangre periférica (A). Caracterización de LB mediante el marcador anti-CD19 (B). Empleando los marcadores CD27 e IgD se establecieron subpoblaciones de LB: vírgenes (IgD+CD27-), memoria IgM+ (IgD+CD27+), memoria conmutada (IgD-CD27+) y CD27- (IgD- CD27-) (C).

Finalizada la fase de estandarización, mediante citometría de flujo se detectaron las subpoblaciones de LB descritas anteriormente en niños con SIR y voluntarios sanos como se observa en la figura 4. Los resultados encontrados al comparar los grupos de estudio muestran claramente que no hay diferencias estadísticamente significativas entre estos. Así mismo, cuando se compararon los valores obtenidos con los de referencia establecidos por grupos de edad, se encontró que no se presenta disminución en las subpoblaciones de LB de acuerdo para la edad como se observa en el cuadro 5, los LB CD19+ tienen una mediana de 15,1 y rango de 7,9-28,6, LBm conmutada con una mediana de 15,9 y rango de 5-36,4, LBm IgM con una mediana de 10,4 y rango de 6-21,6, LBm CD27- con una mediana de 8 y rango de 2,7-19,1, LB Vírgenes con una mediana de 62,3 y rango de 48,4-84,7 para los 15 pacientes SIR.

Figura 4. Porcentaje de células B de memoria en niños con SIR versus VS. .



Fuente: base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos.

Mediante citometría de flujo en pacientes SIR (puntos negros), SIRA (puntos rojos) y VS (voluntarios sanos) se determinó el porcentaje de LB: CD19+ (A), vírgenes (B), LBm IgM (C), CD27- (D) y memoria conmutada (E). El valor de P (<0.05) corresponde al test Mann Whitney

Cuadro 4. Distribución de subpoblaciones de Linfocitos B de memoria en niños con infección recurrente.

SIR	Edad	LB CD19+	Valor normal	LBm Conmutada	Valor normal	LBm IgM	Valor normal	LBm CD27-	Valor normal	LB vírgenes	Valor normal
1	4	12,1	16.5– 25.8	18,9	1.5– 4.1	9,4	4.2– 6.9	19,1	1.6– 3.6	52,6	83.4– 90.1
2	4	7,9	13.4– 21.1	15,6	3.3– 7.4	12,5	4.1– 9.0	7,4	3.4– 6.1	64,6	76.3– 84.9
3	3	14,3	16.5– 25.8	17,6	1.5– 4.1	21,6	4.2– 6.9	2,7	1.6– 3.6	58,2	83.4– 90.1
4	3	7,5	16.5– 25.8	5	1.5– 4.1	2,4	4.2– 6.9	8	1.6– 3.6	84,7	83.4– 90.1
5	2	12,4	16.5– 25.8	23,9	1.5– 4.1	12	4.2– 6.9	15,7	1.6– 3.6	48,4	83.4– 90.1
6	3	20,5	16.5– 25.8	7,2	1.5– 4.1	6	4.2– 6.9	10,5	1.6– 3.6	76,3	83.4– 90.1
7	4	9,3	16.5– 25.8	21,6	1.5– 4.1	8,3	4.2– 6.9	8,3	1.6– 3.6	61,8	83.4– 90.1
8	5	22,1	13.4– 21.1	16,6	3.3– 7.4	10,3	4.1– 9.0	5,3	3.4– 6.1	67,8	76.3– 84.9
9	4	20,6	16.5– 25.8	14,9	1.5– 4.1	10,4	4.2– 6.9	13,6	1.6– 3.6	61,1	83.4– 90.1
10	4	15,1	13.4– 21.1	12,5	3.3– 7.4	12,5	4.1– 9.0	8,8	3.4– 6.1	66,2	76.3– 84.9
11	13	7,9	10.2– 15.4	21,2	3.3– 9.6	7,9	4.6– 10.2	22	2.3– 5.5	48,9	75.2– 86.7
12	3	28,6	16.5– 25.8	12,8	1.5– 4.1	11,4	4.2– 6.9	7,4	1.6– 3.6	68,4	83.4– 90.1
13	6	18,5	13.4– 21.1	14,4	3.3– 7.4	6,8	4.1– 9.0	16,5	3.4– 6.1	62,3	76.3– 84.9

14	8	18,6	9.8– 17.7	19,2	5.2– 12.1	16,4	7.5– 12.4	4,5	3.5– 6.6	59,9	69.4– 80.4
15	4	28,6	16.5– 25.8	15,9	1.5– 4.1	12,8	4.2– 6.9	6,2	1.6– 3.6	65	83.4– 90.1

Fuente: Base de datos niños síndrome de infección recurrente y voluntarios sanos.

10. DISCUSIÓN

El síndrome de infección recurrente es una de las causas más frecuentes de consulta en los pacientes pediátricos. El personal de salud principalmente el médico juega un papel importante debido a que a él le corresponde determinar que pacientes presentan una condición clínica normal o existe la presencia de una patología de base que genera un curso anormal de la enfermedad. Resaltar que un diagnóstico oportuno evita complicaciones en los pacientes, ausentismo escolar, deterioro en la calidad de vida y permite un tratamiento oportuno.

Nuestro estudio se encuentra sujeto a ciertas limitaciones asociadas con la revisión de historias clínicas debido a que en algunas ocasiones encontramos datos incompletos.

Este trabajo fue diseñado para identificar pacientes que pueden presentar inmunodeficiencias primarias, donde una de sus principales manifestaciones clínicas es el síndrome de infección recurrente. Los pacientes incluidos presentaban SIR y se caracterizaron clínica e inmunológicamente para establecer cuales presentaron un síndrome de infección recurrente anormal que se caracteriza por el cumplimiento de 3 o más criterios de anormalidad como son la presencia de 8 o más otitis media en el año, 2 o más sinusitis complicadas en el año, 2 o más neumonías en el año, 2 o más infecciones profundas en el año o de localización no habitual, infecciones recurrentes cutáneas profundas o abscesos en órganos, necesidad frecuente de usar medicación intravenosa para curar infecciones, infecciones por organismos no habituales u oportunistas e historia familiar de inmunodeficiencias⁶². En nuestro estudio 6 pacientes presentaron síndrome de infección recurrente anormal, el 90% de los pacientes requirió tratamiento antibiótico y un paciente recibió tratamiento con inmunoglobulina intravenosa.

La deficiencia de anticuerpos específicos es la inmunodeficiencia primaria más diagnosticada⁶³, nuestro estudio confirma que es la más frecuente debido a que encontramos que el 13,3% de nuestros pacientes (n=15) presenta una deficiencia de anticuerpos específica, que fue encontrada en pacientes que presentan sospecha de inmunodeficiencias primarias debido a que presentan un cuadro

⁶² Montoya CJ, Salgado H, Olivares MM, Patiño PJ. Evaluación de la respuesta inmune en el paciente con infección recurrente sospechoso de padecer inmunodeficiencia. Salud UIS 2000;32:105-11.

⁶³ Javier FC, III, Moore CM, Sorensen RU. Distribution of primary immunodeficiency diseases diagnosed in a pediatric tertiary hospital. Ann Allergy Asthma Immunol. 2000;84:25-30.

clínico de infección anormal y a repetición por microorganismo de etiología bacteriana que se asocian a deficiencias humorales del sistema inmune.

En nuestro estudio se evaluó la respuesta a la vacuna antineumocócica polisacárida, donde se encontró que el 13,3% de los pacientes presentaban títulos <1.3 mg/dl en el 50% de los serotipos evaluados lo que hace el diagnóstico de una inmunodeficiencia primaria específica de anticuerpos mencionado anteriormente, esto se relaciona con los reportes de la literatura donde en previas investigaciones se ha encontrado que el 14,9 % de los pacientes presentaban deficiencia específica de anticuerpos⁶⁴ con diferencias al comparar la muestra del estudio, un factor importante es la presencia de un antecedente de infecciones como son la presencia de otitis media y eczema que se asocian con mayor riesgo de este síndrome. Como ha sido ampliamente reportado donde se llega a la conclusión de que historia de infecciones en el tracto respiratorio se encuentra asociado con la deficiencia de anticuerpos específicos debido a que en estos pacientes se ha encontrado disminución de los títulos protectores de anticuerpos⁶⁵.

Siendo la principal manifestación clínica de las inmunodeficiencias primarias el síndrome de infección recurrente anormal es importante mencionar que en nuestro estudio se presentó con una frecuencia del 40% en los pacientes pediátricos que asisten a consulta de infección recurrente del hospital universitario, se ha encontrado en diferentes reportes que la frecuencia del síndrome de infección recurrente anormal es del 43,3% como lo reportan Montoya y colaboradores en población pediátrica hospitalizada⁶⁶, y Enríquez y colaboradores informaron 62% de pacientes con diagnóstico de síndrome de infección recurrente anormal⁶⁷. Estas variaciones en los resultados son importantes porque nos permiten identificar que se requiere de un consolidado con todos los pacientes que presentan síndrome de infección recurrente y luego del análisis clínico clasificarlos si presentan los criterios como un síndrome de infección recurrente anormal.

⁶⁴ R J Boyle, et al. The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children. *ClinExpImmunol*. Dec 2006; 146(3): 486–492.

⁶⁵ AsgharAghamohammadi, et al. Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. *American Journal of Otolaryngology* . 2008; Volume 29, Issue 6, p. 385–392.

⁶⁶ Montoya CJ, Salgado H, Patiño PJ, Dario RG, Patricia DJ, García D, *et al*. 4. Epidemiología de la infección recurrente en pacientes pediátricos hospitalizados. *Acta Med Colomb*. 2002;27:143-50.

⁶⁷ Enríquez LE, Orrego JC, Franco JL, Montoya CJ, Olivares MM, Salgado H, *et al*. Caracterización epidemiológica de pacientes con inmunodeficiencias primarias en el Programa de Detección y Manejo del Síndrome de Infección Recurrente del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias-Universidad de Antioquia. *Revista de Inmunoalergia*. 2005;13:142-3.

Donde el principal microorganismo asociado al síndrome de infección recurrente es el *Streptococcus pneumoniae* que representa el agente causal de hasta el 55% de las otitis media bacteriana en los niños⁶⁸, se encuentra relacionado con los hallazgos de nuestro estudio donde se encontró que la principal infección que se presentó en los pacientes fue la otitis media recurrente con un 35%, demostrado en estudios que esta patología puede ser una característica en común de pacientes que presentan deficiencia de anticuerpos específica⁶⁹. Este hallazgo clínico de antecedentes de infecciones a repetición, siendo la más frecuente la otitis media se encuentra relacionado con la concentración de anticuerpos como lo demuestran diferentes estudios donde se hace evidente esta correlación⁷⁰. En nuestro estudio la relación es solo del 6,2% debido a que solo un paciente con historia de infecciones a repetición presentaba disminución en los títulos de anticuerpos de IgG específica en el 50% de los serotipos evaluados.

Al evaluar la respuesta a la vacuna antineumocócica polisacárida en los pacientes sanos de nuestro estudio se encontró que no hay disminución en los títulos de IgG específica, esto se encuentra relacionado con estudios previos donde se evalúan pacientes controles sanos sin antecedentes de infecciones recurrentes, ni inmunodeficiencias primarias o secundarias y se encontró que presentan títulos de IgG específica protectores evaluados mediante el protocolo de ELISA⁷¹.

Al evaluar las subpoblaciones de LB se encontró que no hay disminución en los valores de las subpoblaciones de LB de memoria ni diferencias estadísticamente significativas. En la literatura ha sido ampliamente reportada una correlación entre las inmunodeficiencias primarias humorales y la frecuencia de LBm mediado por diferentes mecanismos como son la reacción en el centro germinal o un defecto en la generación de LBm IgM debido a que se ha encontrado que el incremento en la frecuencia de la infección por neumococo de niños, ancianos y pacientes esplenectomizados puede ser debida a la disminución de LBm IgM circulantes o alteraciones en la función⁷².

⁶⁸ Block SL. Causative pathogens, antibiotic resistance and therapeutic considerations in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16:449–56.

⁶⁹ Silk HJ, Ambrosino D, Geha RS. Effect of intravenous gammaglobulin therapy in IgG2 deficient and IgG2 sufficient children with recurrent infections and poor response to immunization with *Hemophilus influenzae* type b capsular polysaccharide antigen. *Ann Allergy.* 1990;64:21–5.

⁷⁰ O Ruuskanen, et al. Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up. *Clin Exp Immunol.* May 2013; 172(2): 238–244

⁷¹ Wernette CM, Frasch CE, Madore D, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10: 514-9.

⁷² Uddin S, Borrow R, Haeney M, Moranc A, Warrington R, Balmer P, Arkwright PD. Total and serotype-specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine* 2006; 24:5637–5644.

Se han encontrado defectos en células B de memoria que no afectan otros subconjuntos de células, lo que sugiere un defecto en el centro germinal con proliferación celular normal, que se puede manifestar por un aumento del número de células B efectoras naturales⁷³.

Con base en nuestros resultados podríamos sugerir que es posible la realización de una base de datos en donde se capten los pacientes con síndrome de infección recurrente en la región Surcolombiana que permita el diagnóstico temprano y un tratamiento efectivo y oportuno para así evitar complicaciones y mejorar la calidad de vida de los pacientes .

⁷³ Barbara Pictus, et al. Common Variable Immune Deficiency in Children—Clinical Characteristics Varies Depending on Defect in Peripheral B Cell Maturation. *J Clin Immunol*. May 2013; 33(4): 731–741.

11. CONCLUSIONES

Se realizó la caracterización clínica de los pacientes con síndrome de infección recurrente encontrando una mediana para la edad de 5 años, siendo el sexo masculino el más frecuente en los pacientes SIR, y antecedentes de infecciones a repetición siendo la más frecuente la otitis media.

Se encontró que el 40% de los pacientes SIR presentaban un síndrome de infección recurrente anormal.

En los niños SIR no se encontró disminución en los niveles de inmunoglobulinas totales.

En el grupo de niños con SIR hay una disminución estadísticamente significativa en los títulos plasmáticos de anticuerpos específicos en la mayoría de los serotipos evaluados.

El 13,3% de los pacientes con SIR podría presentar deficiencia predominante de anticuerpos al tener valores plasmáticos de anticuerpos anti-neumococo inferiores al nivel de protección establecido por la OMS (1.3 µg/ml), frente al 50% se los serotipos evaluados, mientras que los sanos presentaron títulos de anticuerpos protectores.

Se estandarizó la tinción por citometría de flujo para evaluar las subpoblaciones de linfocitos B de memoria circulante.

Las subpoblaciones de Linfocitos B de memoria en niños con SIR y los voluntarios sanos, se encontraron dentro de los valores normales y sin diferencias estadísticamente significativas.

12. RECOMENDACIONES

Aumentar el tamaño de la muestra para así lograr una mayor correlación entre las características clínicas y los niveles de IgG específica.

Generar una base de datos en la región Surcolombiana que permita un registro de los pacientes con síndrome de infección recurrente para apoyar el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes con inmunodeficiencias primarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Montoya CJ, Orrego JC, Patiño PJ, Franco JL. Síndrome de infección recurrente. En: Correa JA, Gómez JF, Posada R, editores. Fundamentos de Pediatría. Tomo V. Tercera edición. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas; 2007. p. 250-7.
2. Arkwright PD, and Gennery AR. Ten warning sings of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. *Ann N Y Acad Sci*2011; Nov;1238(1):7-14.
3. Montoya CJ, Salgado H, Olivares MM, Patiño PJ. Evaluación de la respuesta inmune en el paciente con infección recurrente sospechoso de padecer inmunodeficiencia. *Salud UIS* 2000; 32:105-11.
4. Miguel Ángel Díaz, Dairo Mauricio Sarrazola, Julio César Orrego. Caracterización epidemiológica, clínica y de algunos parámetros inmunológicos del síndrome de infección recurrente en niños y adolescentes desplazados a la ciudad de Cúcuta. Vol. 12 - 1, 2008 Asociación Colombiana de Infectología.
5. Ambrosino DM, Siber GR, Chilmonczyk BA, Jernberg JB, Finberg RW. An immunodeficiency characterized by impaired antibody responses to polysaccharides. *N Engl J Med*. 1987;316:790–3.
6. Musher DM. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. *ClinInfectDis*1992; 14:801-809
7. Sorensen RU, Leiva LE, Javier FC, III, *et al*. Influence of age on the response to *Streptococcus pneumoniae* vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. *J Allergy ClinImmunol*. 1998;102:215–221
8. Boyle RJ, Le C, Balloch A, Tang M. The clinical syndrome of antibody deficiency in children. *ClinExplImmunol* 2006; 146:486–92.

9. Wernette CM, Frasch CE, Madore D, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *ClinDiagn Lab Immunol.* 2003;10:514–9
10. Uddin S, Borrow R, Haeney MR, Moran A, Warrington R, Balmer P, *et al.* Total and serotype-specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine* 2006;24:5637-5644
11. Wasserman RL, Sorensen RU. Evaluating children with respiratory tract infections: the role of immunization with bacterial polysaccharide vaccine. *Pediatr Infect Dis J*1999;18:157-163
12. Zora JA, Silk HJ, Tinkleman DG. Evaluation of postimmunization pneumococcal titers in children with recurrent infections and normal levels of immunoglobulin. *Ann Allergy* 1993;70:283-288.
13. Cuilliere ML, Montagne P, Bessou T, *et al.* Microparticle-enhanced nephelometric immunoassay (Nephelia) for immunoglobulins G, A, and M. *ClinChem* 1991;37:20-5.
14. Miles J, Riches P. The determination of IgG subclass concentrations in serum by enzyme-linked immunosorbent assay: establishment of age-related reference ranges for cord blood samples, children aged 5-13 years and adults. *Ann ClinBiochem* 1994;31(Pt 3):245-8.
15. Wernette CM, Frasch CE, Madore D, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *ClinDiagn Lab Immunol* 2003;10: 514-9.
16. David Tuerlinckx *et al.* Pneumococcal Antibody Levels in Children With PID Receiving Immunoglobulin *PEDIATRICS* Volume 133, Number 1, January 2014
17. LIM, M., ELENITOBA, K. 2004. The Molecular Pathology of Primary Immunodeficiencies. *Journal of Molecular Diagnostics* 6: 59-83.

18. MONTROYA, C. 2004. Inmunodeficiencias Primarias. En: Rugeles y Patiño, P. (eds). Inmunología- UnaCienciaActiva.
19. Stiehm RE. The four most common immunodeficiencies. *AdvExp Med Biol* (2007) 601:15–2610.1007/978-0-387-72005-0_2
20. Gathmann B, Grimbacher B, Beauté J, Dudoit Y, et al. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008. *ClinExpImmunol* 2009;157(Suppl 1):3-11.
21. Rezaei N, Aghamohammadi A, Moin M, Pourpak Z, et al. Frequency and clinical manifestations of patients with primary immunodeficiency disorders in Iran: Update from the Iranian Primary Immunodeficiency Registry. *J ClinImmunol* 2006;26:519-532.
22. Kirkpatrick P, Riminton S. Primary immunodeficiency diseases in Australia and New Zealand. *J ClinImmunol* 2007;27:517-524.
23. Montoya, Carlos Julio, Henao, Julieta, Salgado, Helí, Olivares, *et al.* Diagnóstico fenotípico de las inmunodeficiencias primarias en Antioquia, Colombia, 1994-2002. *Biomédica*; Vol 22, No 4 (2002); 510-8
24. García de O D, Patiño PJ, Salgado H, López JA, Montoya CJ, Pérez JE. Evaluación del paciente con inmunodeficiencia. Síndrome de infección recurrente patológica. *Medicina y Laboratorio* 1997; 7: 545-575.
25. Enríquez LE, Orrego JC, Franco JL, Montoya CJ, Olivares MM, Salgado H. Caracterización epidemiológica de pacientes con inmunodeficiencias primarias en el Programa de Detección y Manejo del Síndrome de Infección Recurrente del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias- Universidad de Antioquia. *Rev Inmunoal*2005; 13:142-3.
26. Wasserman RL and Sorensen RU. Evaluating children with respiratory tract infections: the role of immunization with bacterial polysaccharide vaccine. *PediatrInfectDis J* 1999;18:157- 63.

27. García de OD, Montoya, CJ, Salgado, H *et al.* Sistema de vigilancia epidemiológica para el Síndrome de Infección Recurrente Patológico (SIRP). Boletín Epidemiológico de Antioquia 1995; 3:157-166.
28. Montoya CJ, Salgado H, Olivares MM, Patiño PJ. Evaluación de la respuesta inmune en el paciente con infección recurrente sospechoso de padecer inmunodeficiencia. Salud UIS 2000; 32:105-11.
29. Montoya CJ, Henao J, Salgado H, Olivares MM, López JA, Rugeles C. Diagnóstico fenotípico de las inmunodeficiencias primarias en Antioquia, Colombia, 1994 - 2002. Bioméd2002; 22:510-518.
30. Díaz MA, Sarrazola D, Orrego JC. Caracterización epidemiológica, clínica y de algunos parámetros inmunológicos del síndrome de infección recurrente en niños y adolescentes desplazados. Asoc Colomb Infect 2008; Vol 12 – 1
31. Arkwright PD, and Gennery AR. Ten warning sings of primary immunodeficiency: a new paradigm is needed for the 21st century. Ann N Y Acad Sci2011; Nov;1238(1):7-14.
32. McCusker C and Warrington R. Primary immunodeficiency. AllerAsthm&ClinImmuno2011; 7(Suppl 1):S11
33. Boyle JM, and Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. J ClinImmuno2007; 27:497-502.
34. García de O D, Patiño PJ, Salgado H, López JA, Montoya CJ, Pérez JE. Evaluación del paciente con inmunodeficiencia. Síndrome de infección recurrente patológica. Medicina y Laboratorio 1997; 7: 545-575
35. Driessen G, and Van der Burg M. Primary antibody deficiencias. Eur J Pediatr2011; 170:693–702
36. Musher DM. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum,pathogenesis, immunity and treatment. ClinInfectDis1992; 14:801-809.

37. (Instituto Nacional de Salud Boletín epidemiológico semanal, semana 51)
38. Picard C, Puel A, Bustamante J, Ku CL, Casanova JL. Primary immunodeficiencies associated with pneumococcal disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2003;3:451–9.
39. Thiel J, *et. al.* Rump J, Hiesler M. Genetic CD21 deficiency is associated with Hypogammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol* 2011; XXX.
40. Pecanha LM, Snapper C, Finkelman F, Mond J. Dextran-conjugated anti-Ig antibodies as a model for T cell-independent type 2 antigen-mediated stimulation of Ig secretion in vitro. I. Lymphokine dependence. *J Immunol* 1991; 146:833-9
41. Jeurissen A, Wuyts A, Kasran A, Ramdien-Murli S, Boon L, Cauppens JL, Bossuyt X. Essential role for CD40 ligand interactions in T lymphocyte-mediated modulation of the murine immune response to pneumococcal capsular polysaccharides. *J Immunol* 1991; 168:2773-81.
42. Colino J, Shen Y, Snapper C. Dendritic cells pulsed with intact *Streptococcus pneumoniae* elicit both protein- and polysaccharide-specific immunoglobulin isotype responses in vivo through distinct mechanisms. *J Exp Med* 2002; 195:1-13.
43. Pinchuk LM, Klaus SJ, Magaletti DM, Pinchuk GV, Norsen JP, Clark EA. Functional CD40 ligand expressed by human blood dendritic cells is up-regulated by CD40 ligand. *J Immunol* 1996; Nov 15;157(10):4363-70.
44. Wykes M and MacPherson G. Dendritic cell-B-cell interaction: dendritic cells provide B cells with CD40-independent proliferation signals and CD40-dependent survival signals. *Immunol* 2002; 100:1-3.
45. Freijd AL, Hammarström M, Persson, Smith C. Plasma pneumococcal antibody of the IgG class and subclasses in otitis prone children. *Clin Exp Immunol* 1984; 56:233–38.

46. Gordon S, Irving G, Lawson R, Lee M, Read R.. Intracellular trafficking and killing of *Streptococcus pneumoniae* by human alveolar macrophages are influenced by opsonins. *Infect Immun*2000; 68:2286-93.
47. Sorensen R U, Leiva L, Giangrosso P, Butler B, Sacerdote DM, Bradford N, Moore C. Response to a heptavalent conjugate *Streptococcus pneumoniae* vaccine in children with recurrent infections who are unresponsive to the polysaccharide vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17:685–91.
48. Rodríguez JA, Salgado DG, Saiz A. Specific pneumococcal antibodies in a population of children with recurrent infections from Neiva, Huila, Colombia. *J Trop Pediatr*2004; 50:309- 11.
49. Janoff EN, Fasching C, Orenstein JM, Rubins JB, Opstad NL, Dalmasso AP. Killing of *Streptococcus pneumoniae* by capsular polysaccharide-specific polymeric IgA, complement, and phagocytes. *J Clin Invest* 1999; 104:1139–47
50. Griffioen A, Rijkers G, Janssens-Korpela P, ZegersB.. Pneumococcal polysaccharides complexed with C3d bind to human B lymphocytes via complement receptor type 2. *Infect Immun*1991; 59:1839-45
51. PesetLopis M, Harmans G, Hardonk M, Timens W. Human immune response to pneumococcal polysaccharides: complement-mediated localization preferentially on CD21- positive splenic marginal zone B cells and follicular dendritic cells. *J Allergy ClinImmunol*1996; 97:1015-24
52. Thiel J, *et.al.* Genetic CD21 deficiency is associated with Hypogammaglobulinemia. *J Allergy ClinImmunol*2011; XXX
53. Wirths S and Lanzavecchia A. ABCB1 transporter discriminates human resting naive B cells from cycling transitional and memory B cells. *Eur J Immunol* 2005; Dec;35(12):3433-4
54. Carsetti R, Pantosti A, Quinti I. Impairment of the antipolysaccharide response in splenectomized patients is due to the lack of immunoglobulin M memory B cells. *J Infect Dis* 2006; Apr 15;193(8):1189-90.

55. Uddin S, Borrowb R, Haeney M, Moranc A, Warrington R, Balmer P, Arkwright PD. Total and serotype-specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine*2006; 24:5637–5644
56. Montoya CJ, Salgado H, Olivares MM, Patiño PJ. Evaluación de la respuesta inmune en el paciente con infección recurrente sospechoso de padecer inmunodeficiencia. *Salud UIS* 2000;32:105-11.
57. Javier FC, III, Moore CM, Sorensen RU. Distribution of primary immunodeficiency diseases diagnosed in a pediatric tertiary hospital. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000;84:25–30.
58. Block SL. Causative pathogens, antibiotic resistance and therapeutic considerations in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J.* 1997;16:449–56
59. Silk HJ, Ambrosino D, Geha RS. Effect of intravenous gammaglobulin therapy in IgG2 deficient and IgG2 sufficient children with recurrent infections and poor response to immunization with Hemophilus influenzae type b capsular polysaccharide antigen. *Ann Allergy.* 1990;64:21–5
60. O Ruuskanen , et al. Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up. *ClinExpImmunol.* May 2013; 172(2): 238–244
61. Montoya CJ, Salgado H, Patiño PJ, Dario RG, Patricia DJ, García D, et al. 4. Epidemiología de la infección recurrente en pacientes pediátricos hospitalizados. *Acta Med Colomb.* 2002;27:143-50.
62. Enríquez LE, Orrego JC, Franco JL, Montoya CJ, Olivares MM, Salgado H, et 3. al. Caracterización epidemiológica de pacientes con inmunodeficiencias primarias en el Programa de Detección y Manejo del Síndrome de Infección Recurrente del Grupo de Inmunodeficiencias Primarias-Universidad de Antioquia. *Revista de Inmuno alergia.* 2005;13:142-3.
63. Asghar Aghamohammadi, *et al.* Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. *American Journal of Otolaryngology .* 2008;Volume 29, Issue 6, Pages 385–392.

64. Wernette CM, Frasch CE, Madore D, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *ClinDiagn Lab Immunol* 2003;10: 514-9
65. Uddin S, Borrow R, Haeney M, Moranc A, Warrington R, Balmer P, Arkwright PD. Total and serotype-specific pneumococcal antibody titres in children with normal and abnormal humoral immunity. *Vaccine* 2006; 24:5637–5644
66. Barbara Pi tosa, *et al.* Common Variable Immune Deficiency in Children—Clinical Characteristics Varies Depending on Defect in Peripheral B Cell Maturation. *J ClinImmunol.* May 2013; 33(4): 731–741.

ANEXOS

Anexo A. Consentimiento informado.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA UN NIÑO QUE VA A PARTICIPAR EN EI PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

**“Respuesta de anticuerpos totales y específicos de Neumococo en niños con
síndrome de infección recurrente del sur Colombiano”**

Usted está invitado a participar en un estudio de investigación multicéntrico con la Participación de la Universidad Surcolombiana (Neiva). Es muy importante que usted lea y entienda ciertos puntos importantes en la realización de este estudio:

Su participación y la de su hijo(a) en este estudio es totalmente voluntaria. (b) **NO PODEMOS GARANTIZARLE Y NO LE GARANTIZAMOS O PROMETEMOS QUE USTED RECIBIRÁ ALGUN BENEFICIO DE ESTE ESTUDIO.** Sin embargo, esta investigación nos permite clarificar muchos conceptos sobre los mecanismos inmunológicos de la enfermedad, de manera que los beneficios posteriores sean para usted, su familia u otros individuos afectados. (c) Usted puede retirarse del estudio cuando lo desee. La revocación de este consentimiento no tendrá perjuicio alguno sobre la relación médico-paciente ni consecuencia alguna en la calidad de atención médica que se le suministre. (d) Ninguna persona involucrada en este estudio recibirá beneficios económicos como pago por su participación. (e)

Este estudio no tiene ningún interés económico por parte nuestra o de las instituciones colaboradoras. (f) Participar en este estudio no tiene ningún costo para usted. (g) **CONFIDENCIALIDAD:** Los registros con la información de cada individuo permanecerán archivados en la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana. Las historias médicas, los resultados de exámenes y la información que usted nos ha dado son de carácter absolutamente confidencial, de manera que, solamente usted y el equipo de investigación tendrán acceso a estos datos.

Por ningún motivo se divulgará esta información sin su consentimiento. Cuando los resultados de este estudio sean reportados en revistas médicas científicas o en congresos científicos, los nombres de todos aquellos que tomaron parte en el estudio serán omitidos. (h) La naturaleza de este estudio, sus riesgos, sus inconvenientes, incomodidades y cualquier información importante está resumida a continuación y será explicada por el grupo investigador. Si tiene algún interrogante sobre el estudio por favor no dude en manifestarlo a alguno de los

investigadores, quien con mucho gusto, le contestará sus preguntas. (i) No hay ningún procedimiento o protocolo alternativo al propuesto por este estudio. Su alternativa es no participar en el mismo. (j) Si cualquier complicación se presenta durante la investigación, los investigadores lo ayudarán a obtener el tratamiento médico adecuado, pero este estudio no le suministrará ayuda financiera para costos médicos y no médicos adicionales. (k) Al firmar esta forma usted no está renunciando a sus derechos en caso de que se le cause un daño personal. Para mayor información, por favor llame a los números 8718310 ext 124, 8718077 o escriba al Comité de Ética de la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana en Neiva, calle 9, carrera 14, segundo piso. Adicionalmente, si usted no está satisfecho con la forma como se está conduciendo este estudio o tiene otras preguntas concernientes a sus derechos como participante del estudio, por favor contacte al mismo Comité en los teléfonos y dirección mencionados antes.

I. EXPLICACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN AL INDIVIDUO

OBJETIVO: La infección recurrente es la principal causa de consulta en niños y en ocasiones causan la muerte. Este estudio busca caracterizar la respuesta humoral representada en la IgM, IgG e IgA total y la IgG específica de neumococo en niños con síndrome de infección recurrente y determinar la frecuencia de las subpoblaciones de linfocitos B de memoria en niños con estos niños del sur colombiano. 40 niños participarán en este estudio.

PROCEDIMIENTO: Después de que usted haya leído, entendido, aceptado y firmado este consentimiento al niño con diagnóstico clínico presuntivo de infección recurrente se le tomará una muestra de sangre (2-5 mililitros, menos de una cucharadita). En total se tomarán 1 muestra de sangre, en la cual se evaluarán la población de linfocitos B de memoria involucrados en la respuesta inmune y los anticuerpos. La toma de la muestra será realizada por personal especializado y con experiencia. La vinculación de su hijo (a) al proyecto será hasta 30 días después del inicio de los síntomas. En caso de que sea necesario repetir los exámenes, usted será notificado para tomar las muestras nuevamente pero la decisión final de la toma de la nueva muestra será personal y voluntaria.

RIESGOS E INCOMODIDADES: La participación en este estudio representa riesgo mínimo para la salud e integridad de su hijo(a) y las molestias y efectos adversos estarán representados exclusivamente por la toma de muestra referida en el procedimiento que pueden incluir dolor mínimo, infecciones, sangrado y/o hematomas (morados).

BENEFICIOS ADICIONALES: Este estudio tiene para usted o su hijo(a) (los) siguiente(s) beneficio(s) adicional(es): La identificación de la causa inmune que genera la infección recurrente, puede contribuir con el diagnóstico y enfoque terapéutico.

RESPONSABILIDAD DEL PACIENTE Y PRECAUCIONES: Al tomar parte de este estudio importante que usted contemple las siguientes responsabilidades y precauciones: Debe seguir las indicaciones y tratamientos de su médico tratante.

MANEJO DE RESULTADOS: Los resultados de las pruebas son UNICAMENTE para fines de investigación y serán facilitados a usted si así lo desea, pero sólo si usted lo solicita se le comunicarán los resultados de exámenes practicados en el futuro.

OTRA INFORMACIÓN PERTINENTE: En el curso del estudio se le suministrará a usted cualquier tipo de información nueva, derivada de éste, que pueda modificar su participación en el mismo. Las muestras en ningún momento serán utilizadas con fines distintos a la investigación. Usted podrá, en el momento que lo desee, retirar las muestras del almacenamiento y/o obtener información sobre su uso posterior. A discreción del investigador principal, en cualquier momento, cualquier voluntario puede ser retirado del estudio. Si usted cree que ha sufrido una lesión relacionada con la investigación, o desea cualquier información adicional, por favor llame al Dr. Jairo Antonio Rodríguez., MD., PhD. Tel 8718310 ext 124 Facultad de Salud Universidad Surcolombiana.

AUTORIZACION: La utilización de la muestra en estudios posteriores nos podría ayudar en el futuro a entender las causas y/o el comportamiento de la entidad anteriormente mencionada. Se puede dar el caso en donde usted y su familia no se beneficien directamente de estos estudios, pero tanto su familia como otros individuos afectados podrían beneficiarse. Usted tiene el derecho a no permitir que sus tejidos (células de la sangre) sean estudiados inmediatamente o guardados para estudios en el futuro. Usted se puede retirar del estudio en cualquier momento. Los investigadores podrán guardar las muestras como parte del tratamiento clínico rutinario sin que éstas sean incluidas en la investigación. Por lo tanto, por favor marque su decisión con respecto al almacenamiento de la muestra y su utilización en estudios de investigación posteriores:

- Deseo que la muestra que me fue extraída sea DESECHADA una vez completado el estudio de investigación.

• Autorizo conservar la muestra que me fue extraída con la posibilidad de emplearla en las situaciones señaladas a continuación:

- En estudios complementarios de diagnóstico para mi o algún miembro de mi familia :

Si ___ No ___

- En estudios de investigación específicos para la(s) entidad(es), objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación:

Si ___ No ___

- En estudios de investigación de entidades distintas a la(s) entidad(es) objeto de esta toma de muestra, siempre y cuando se conserve en anonimato mis datos de identificación:

Sí ___ No ___

- En estudios de investigación colaborativos con otras instituciones nacionales y/o internacionales, siempre y cuando exista acuerdo interinstitucional previo, aprobación del comité de ética y se conserve en anonimato mis datos de identificación:

Si ___ No ___

AUTORIZACION PARA LA TOMA DE MUESTRAS E INCLUSION VOLUNTARIA EN ELESTUDIO:

“Respuesta de anticuerpos totales y específicos de Neumococo en niños consíndrome de infección recurrente del sur Colombiano”

Yo, _____ identificado con documento de identificación:

No. _____ de _____, acepto voluntariamente que se tome a mí Hijo(a) _____ las muestras de _____

_____ Con el fin de realizar análisis de _____. Así mismo, declaro que se me ha Explicado la presencia de los riesgos y el manejo que se le dará al material de muestra.

Fecha: _____

Paciente, Acudiente, Representante legal Testigo

Cc c.c.

Investigador

Cc