



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

1 de 2

Neiva, agosto 2021

Señores
CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN
UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
Ciudad

El (Los) suscrito(s):

Daniel Fernando Perdomo Peralta, con C.C. No. 1075303098, Autor(es) de la tesis y/o trabajo de grado titulado Respuesta de anticuerpos específicos Anti-neumococo en niños con Síndrome de Infección Recurrente presentado y aprobado en el año 2021 como requisito para optar al título de Médico;

Autorizo (amos) al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que, con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores” , los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

Vigilada Mineducación



CARTA DE AUTORIZACIÓN

CÓDIGO

AP-BIB-FO-06

VERSIÓN

1

VIGENCIA

2014

PÁGINA

2 de 2

EL AUTOR/ESTUDIANTE:

Daniel Perdomo

Firma: _____



TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Respuesta de anticuerpos específicos Anti-neumococo en niños con Síndrome de Infección Recurrente

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Perdomo Peralta	Daniel Fernando

DIRECTOR Y CODIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Castañeda Uvajoa	Diana Mercedes

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Astaiza Arias	Gilberto Mauricio
Narváez Rojas	Carlos Fernando

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Medico

FACULTAD: Salud

PROGRAMA O POSGRADO: Programa de Medicina

CIUDAD: Neiva AÑO DE PRESENTACIÓN: 2021 NÚMERO DE PÁGINAS: 78

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas___ Fotografías___ Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general___
Grabados___ Láminas___ Litografías___ Mapas___ Música impresa___ Planos___
Retratos___ Sin ilustraciones___ Tablas o Cuadros_



CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	2 de 4
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

GraphPad Prism 7.0a

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (*En caso de ser LAUREADAS o Meritoria*):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

Español

Inglés

- | | |
|--|---------------------------------|
| 1. Síndrome de infección recurrente | Recurrent infection syndrome |
| 2. Inmunodeficiencia primaria | Primary immunodeficiency |
| 3. Deficiencia Predominante de anticuerpos | Predominant antibody deficiency |
| 4. Neumococo | Pneumococcal |
| 5. Infecciones respiratorias | Respiratory infections |

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

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 síndrome de infección recurrente (SIR). Entre las IDP más comunes se encuentra la deficiencia predominante de anticuerpos (DPA). En el presente estudio se buscó determinar la respuesta humoral IgG específica anti-neumococo en pacientes con SIR que asistieron a la junta de infección recurrente en el Hospital de Neiva. Fue un estudio observacional descriptivo y retrospectivo de casos con dos grupos de comparación. Se tomaron 10 sujetos voluntarios con SIRA, como controles se incluyeron 10 niños clínicamente sanos. El rango de edad fue de 1 y 4 años, con una mediana de 2 años, 7 pacientes correspondieron al género masculino y 3 pacientes al género femenino. El rango del número de hospitalizaciones fue de 3 y 10 veces al año, con una mediana de 4 hospitalizaciones requeridas al año. El diagnóstico principal fue el de otitis media crónica supurativa (4 pacientes). 1 paciente (10%) presentó una respuesta no protectora ($<1,32$ ug/ml) para 8 de los 10 serotipos evaluados. Se concluye que en niños menores de 5 años con infecciones respiratorias recurrentes es preciso



DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO

CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	3 de 4
--------	--------------	---------	---	----------	------	--------	--------

investigar una IDP como la DPA y que la vacuna neumocócica conjugada es capaz de inducir una respuesta IgG en el 90% de los niños con infecciones recurrentes.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

Recurrent infection syndrome (SIR) is a clinical condition characterized by frequent occurrence of bacterial and fungal infections. Primary immunodeficiencies (IDPs) usually manifest early in life as a recurrent infection syndrome (SIR). Among the most common IDPs is the predominant antibody deficiency (DPA). In the present study, we sought to determine the specific anti-pneumococcal IgG humoral response in patients with SIR who attended the recurrent infection meeting at the Neiva hospital. It was an observational descriptive and retrospective case study with two comparison groups. Ten voluntary subjects with SIRA were taken, as controls 10 clinically healthy children were included. The age range was 1 and 4 years, with a median of 2 years, 7 patients corresponded to the male gender and 3 patients to the female gender. The range of the number of hospitalizations was 3 and 10 times a year, with a median of 4 hospitalizations required per year. The main diagnosis was suppurative chronic otitis media (4 patients). 1 patient (10%) presented a non-protective response (<1.32 ug / ml) for 8 of the 10 serotypes evaluated. It is concluded that in children under 5 years of age with recurrent respiratory infections, an IDP such as DPA must be investigated and that the pneumococcal conjugate vaccine is capable of inducing an IgG response in 90% of children with recurrent infections.

APROBACION DE LA TESIS

Nombre Jurado: Gilberto Mauricio Astaiza Arias

Firma:



DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO

CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	4 de 4
---------------	---------------------	----------------	----------	-----------------	-------------	---------------	---------------

Nombre Asesor: Diana Mercedes Castañeda Uvajoa

Firma:

RESPUESTA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS ANTI-NEUMOCOCO EN
NIÑOS CON SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE

DANIEL FERNANDO PERDOMO PERALTA

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2021

RESPUESTA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS ANTI-NEUMOCOCO EN
NIÑOS CON SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE

DANIEL FERNANDO PERDOMO PERALTA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Médico

Asesores:

DIANA MERCEDES CASTAÑEDA UVAJOA
Microbióloga, MSc en Ciencias Biológicas

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

GILBERTO MAURICIO ASTAIZA ARIAS
MD. MSc en educación y desarrollo comunitario,
Doctorado Interfacultades de Salud Pública

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2021

Nota de aceptación:

Aprobado por el Comité de grado en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad Surcolombiana para optar al título de Médico.



GILBERTO MAURICIO ASTAIZA ARIAS
Doctor en Salud Pública
Magister en Educación y Desarrollo
Comunitario
Especialista en Epidemiología
Médico
Firma del jurado



DIANA MERCEDES CASTAÑEDA UVAJOA
Magister en Ciencias Biológicas
Microbióloga Industrial
Firma del asesor

Neiva, agosto del 2021.

DEDICATORIA

A mis padres porque son la fuente de mi esfuerzo y dedicación y sé que, sin ellos, esta aventura no hubiese sido posible.

Daniel Fernando

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos:

A los docentes de la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana, por ser la guía de este sueño.

A la Doctora DIANA MERCEDES CASTAÑEDA UVAJOA, Mic. Ind., MSc; CARLOS FERNANDO NARVAEZ ROJAS, MD, MSc., Ph. D Y GILBERTO MAURICIO ASTAIZA ARIAS, MD. MSc en educación y desarrollo comunitario, Doctorado Interfacultades de Salud Pública, por los aportes científicos.

A todos los participantes, Mil y mil gracias.

CONTENIDO

	pág.
1. INTRODUCCIÓN	14
1. JUSTIFICACIÓN	16
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
3. OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GENERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4. ANTECEDENTES	22
5. MARCO TEÓRICO	29
5.1 INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS (IDP)	29
5.2 DEFICIENCIA ESPECÍFICA DE ANTICUERPOS (DEA)	31
5.3 STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE (NEUMOCOCO)	32
5.4 SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE (SIR)	34
6. HIPOTESIS	35
6.1 HIPÓTESIS ALTERNATIVA	35

		pág.
6.2	HIPÓTESIS NULA	35
7.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	36
8.	DISEÑO METODOLÓGICO	38
8.1	TIPO DE ESTUDIO	38
8.2	UBICACIÓN DEL ESTUDIO	38
8.3	POBLACIÓN	38
8.4	MUESTRA	38
8.5	MUESTREO	39
8.6	TÉCNICAS	39
8.7	PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	39
8.8	PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS	40
8.9	CONSIDERACIONES ÉTICAS	40
9.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	42
9.1	CARÁCTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON SIRA	42
9.2	CONCENTRACIÓN IgG ESPECÍFICA PARA POLISACÁRIDOS 1, 3, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F DE NEUMOCOCO EN NIÑOS CON SIRA VERSUS CONTROLES SANOS	46

		pág.
10.	DISCUSIÓN	49
11.	CONCLUSIONES	52
12.	RECOMENDACIONES	53
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
	ANEXOS	58

LISTA DE TABLAS

		pág.
Tabla 1	Criterios de anormalidad en los pacientes con SIRA	43
Tabla 2	Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con SIRA	44
Tabla 3	Tabla de contingencia pacientes SIRA y controles sanos	47

LISTA DE GRAFICAS

		pág.
Grafica 1	Concentración de anticuerpos contra el Pn 3 de neumococo en pacientes con SIRA y controles	45
Grafica 2	Concentración de anticuerpos contra el Pn 14 de neumococo en pacientes con SIRA y controles	46
Grafica 3	Número de pacientes SIRA y controles sanos con títulos protectores y no protectores protectores	47

LISTA DE ANEXOS

	pág.	
Anexo A	Aprobación comité de Ética Médica	59
Anexo B	Consentimiento informado	60
Anexo C	Criterios de anormalidad evaluados que definen SIRA	65
Anexo D	Presupuesto	67
Anexo E	Cronograma de actividades	68
Anexo F	Protocolo IGG ANTI-PNEUMOCOCO	69

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 síndrome de infección recurrente (SIR). Entre las IDP más comunes se encuentra la deficiencia predominante de anticuerpos (DPA). En el presente estudio se buscó determinar la respuesta humoral IgG específica anti-neumococo en pacientes con SIR que asistieron a la junta de infección recurrente en el Hospital de Neiva. Fue un estudio observacional descriptivo y retrospectivo de casos con dos grupos de comparación. Se tomaron 10 sujetos voluntarios con SIRA, como controles se incluyeron 10 niños clínicamente sanos. El rango de edad fue de 1 y 4 años, con una mediana de 2 años, 7 pacientes correspondieron al género masculino y 3 pacientes al género femenino. El rango del número de hospitalizaciones fue de 3 y 10 veces al año, con una mediana de 4 hospitalizaciones requeridas al año. El diagnóstico principal fue el de otitis media crónica supurativa (4 pacientes). 1 paciente (10%) presentó una respuesta no protectora ($<1,32$ ug/ml) para 8 de los 10 serotipos evaluados. Se concluye que en niños menores de 5 años con infecciones respiratorias recurrentes es preciso investigar una IDP como la DPA y que la vacuna neumocócica conjugada es capaz de inducir una respuesta IgG en el 90% de los niños con infecciones recurrentes.

Palabras claves. Síndrome de infección recurrente, inmunodeficiencia primaria, deficiencia Predominante de anticuerpos, neumococo, infecciones respiratorias.

SUMMARY

Recurrent infection syndrome (SIR) is a clinical condition characterized by frequent occurrence of bacterial and fungal infections. Primary immunodeficiencies (IDPs) usually manifest early in life as a recurrent infection syndrome (SIR). Among the most common IDPs is the predominant antibody deficiency (DPA). In the present study, we sought to determine the specific anti-pneumococcal IgG humoral response in patients with SIR who attended the recurrent infection meeting at the Neiva hospital. It was an observational descriptive and retrospective case study with two comparison groups. Ten voluntary subjects with SIRA were taken, as controls 10 clinically healthy children were included. The age range was 1 and 4 years, with a median of 2 years, 7 patients corresponded to the male gender and 3 patients to the female gender. The range of the number of hospitalizations was 3 and 10 times a year, with a median of 4 hospitalizations required per year. The main diagnosis was suppurative chronic otitis media (4 patients). 1 patient (10%) presented a non-protective response (<1.32 ug / ml) for 8 of the 10 serotypes evaluated. It is concluded that in children under 5 years of age with recurrent respiratory infections, an IDP such as DPA must be investigated and that the pneumococcal conjugate vaccine is capable of inducing an IgG response in 90% of children with recurrent infections.

Key words. Recurrent infection syndrome, primary immunodeficiency, predominant antibody deficiency, pneumococcal, respiratory infections.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas representan una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en niños en el mundo, especialmente en los países en vía de desarrollo. A pesar de ello, poco se ha descrito acerca del comportamiento epidemiológico de las enfermedades infecciosas que se presentan en forma recurrente y que son relativamente comunes en la práctica médica.

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 síndrome de infección recurrente, con una prevalencia entre 10-50% de IDP en aquellos pacientes reportados en algunos estudios. Entre las IDP más comunes se encuentra la deficiencia predominante de anticuerpos primaria (DPA) que puede ser total o selectiva.

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

En el presente estudio se determinaron las características clínicas y sociodemográficas de pacientes con síndrome de infección recurrente que asistieron a la junta de infección recurrente en el Hospital Universitario de Neiva Hernando Moncaleano Perdomo, las cuales se obtendrán por medio de la revisión documental de historias clínicas de estos pacientes. Una vez obtenidas, se clasificarán los pacientes que cumplan criterios de síndrome de infección recurrente anormal y aquellos que no.

Por otro lado, con los pacientes que cumplan los criterios de síndrome de infección recurrente anormal se determinará la respuesta de anticuerpos anti-neumococo por medio del desarrollo de ELISA a partir de muestras de sangre, previamente obtenidas en las consultas y transportadas, conservadas y optimizadas por el I&I Lab. de la Facultad de Salud de la Universidad Sur colombiana; con esto, se sabrá la capacidad de respuesta humoral IgG anti neumococo séricas de estos niños con síndrome de infección recurrente anormal y así, determinar la presencia o ausencia de inmunodeficiencia primaria.

Se evaluaron 10 pacientes con SIRA y 10 pacientes voluntarios sanos. Se realizó la caracterización sociodemográfica y clínica de los pacientes con SIRA. También, se realizó la medición de anticuerpos específicos anti-neumococo en todos los pacientes, donde se encontraron valores protectores en 9 pacientes con SIRA en la mayoría de los serotipos evaluados y títulos inferiores al valor protector establecido ($>1,32$ ug/ml) en 1 paciente con SIRA, configurando un problema de base en la respuesta humoral de su sistema inmunológico como lo es la deficiencia predominante de anticuerpos.

1.JUSTIFICACIÓN

Las inmunodeficiencias primarias (IDP), especialmente la deficiencia predominante de anticuerpos en niños, es un reto diagnóstico muy importante en la clínica debido a que la mayoría de ellos presentan una respuesta de anticuerpos deficiente e infecciones a repetición por patógenos capsulares con posibles complicaciones graves a futuro. Estos 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.

Hace décadas, se viene realizando estudios acerca de la respuesta deficiente a la vacuna antineumocócica en pacientes con inmunodeficiencias primarias, tanta es su relevancia, que hoy en día hace parte de los parámetros diagnósticos de muchas de ellas. Debido a la relación de todas estas patologías, sumado a el patrón de disminución de la concentración de IgG específica anti neumococo diagnóstico y los niños con síndrome de infección recurrente, se adelantan estudios para conocer cuál es la cantidad de niños que tienen IDP y sufren infecciones a repetición.

A pesar que a nivel local existen dos estudios que describen el comportamiento de las inmunodeficiencias primarias y las respuestas de anticuerpos totales y específicos de neumococo en niños con síndrome de infección recurrente, aún existen vacíos acerca del conocimiento de la prevalencia de niños con inmunodeficiencias, especialmente con deficiencia predominante de anticuerpos, que asisten a consulta por infecciones recurrentes.

Esta investigación en inmunodeficiencias primarias permite orientar cómo realizar un diagnóstico clínico adecuado, realizar un interpretación de exámenes de primera línea de manera correcta y así dirigir de manera efectiva el estudio de los pacientes mediante centros más especializados como es el caso del laboratorio de infección e inmunidad de la Universidad Surcolombiana, de esta manera, para poder realizar un estudio completo de la inmunidad celular y humoral de los pacientes con sospecha de inmunodeficiencias primarias.

Los aportes teóricos de esta investigación van a beneficiar a investigadores a futuro para profundizar acerca de cuál es el comportamiento de las inmunodeficiencias más frecuentes que sufren los niños del sur del Huila, para que de esta manera los médicos clínicos puedan realizar un diagnóstico temprano y oportuno para lograr un tratamiento adecuado de estos pacientes. Con todo esto se pretende evitar la

realización de pruebas diagnósticas costosas e innecesarias y mejorar el pronóstico de los pacientes que sufren de estas enfermedades, especialmente en niños.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones recurrentes en la infancia, especialmente las infecciones del tracto respiratorio, son una causa común de morbilidad y visitas al médico.⁽¹⁰⁾ Durante los primeros años de vida, el sistema inmune permanece inmaduro y algunos componentes de las respuestas innatas y adaptativas son deficientes. En niños pequeños, los niveles séricos de inmunoglobulinas son bajos, así como también los anticuerpos locales y las respuestas inmunes celulares están pobremente desarrollados. Los niños menores de dos años son incapaces de producir anticuerpos anti polisacáridos.^(11,12)

Las infecciones recurrentes o persistentes, así como las infecciones debidas a patógenos inusuales u oportunistas, aproximadamente en un 11% son un síntoma de inmunodeficiencia primaria (IDP), pero la mayoría de los niños, alrededor de 47%, con infecciones recurrentes tienen una respuesta inmune normal. Por lo tanto, es un desafío clínico muy importante identificar a los niños con infecciones recurrentes que puedan tener una IDP, ya que un diagnóstico temprano de ésta, conduce a un mejor tratamiento, un mejor pronóstico, brinda la oportunidad de recibir asesoramiento genético oportuno, 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. Además, pruebas confiables para descartar la posibilidad de una IDP pueden ayudar a evitar pruebas innecesarias y costosas.⁽¹³⁾

Dentro de las IDP, la DPA es la más común (65-75%), 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 Lb 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 los primeros años de vida, no obstante, pueden presentarse a cualquier edad incluyendo los adultos. Afectan individuos de ambos sexos. Sin embargo, en los menores de 5 años se presenta más en los varones con una relación 5:1 con respecto a las mujeres. La prevalencia es generalmente global y se presentan de 1:10.000 nacidos vivos.⁽¹⁴⁾ 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 habitantes.⁽¹⁵⁾

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 fagocitosis.⁽¹⁶⁾ 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%).⁽¹⁷⁾

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 anormal. Entre el 1 de agosto de 1994 y el 31 de julio de 2002 se hizo el diagnóstico fenotípico de inmunodeficiencia primaria en 98 pacientes⁽¹⁸⁾, 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.

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 IgG anti-neumococo sérica en niños con síndrome de infección recurrente. En Neiva, se ha caracterizado mediante dos estudios la prevalencia de pacientes con IDP que consultan por síndrome de infección recurrente, siendo de 13.3% en uno de ellos y del 50% en otro, logrando determinar una cantidad importante de aquellos pacientes. El laboratorio de infección e inmunidad de la Universidad Sur colombiana 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.

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 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.

A nivel local, no existe bastante información acerca de la cantidad de niños que consultan por síndrome de infección recurrente y que a su vez presentan inmunodeficiencias, esto con el fin de conocer la causa de las enfermedades que sufren y son repetitivas en los pacientes de edad pediátrica para realizar un abordaje de manejo completo y mejorar su pronóstico. También, se presenta poca información acerca de los pacientes que presentan síndrome de infección recurrente (tengan inmunodeficiencia o no) y sus características clínicas de presentación y desarrollo de las enfermedades que sufren a repetición, esto con el fin de conocer y familiarizarse con las características de inicio y desarrollo de signos y síntomas que le puede ser útil al médico clínico para encaminar su abordaje diagnóstico y evitar la realización de pruebas costosas.

Teniendo en cuenta la importancia de este tipo de enfermedades a nivel local, se espera poder determinar:

¿Cuál es la respuesta humoral IgG específica anti-neumococo en pacientes con síndrome de infección recurrente que asisten a la junta de infección recurrente en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la respuesta humoral IgG específica anti-neumococo en los pacientes con síndrome de infección recurrente que asisten a la junta de infección recurrente en el Hospital Universitario de Neiva.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Describir las características sociodemográficas de los pacientes que asisten a la junta de infección recurrente.

Determinar la respuesta inmune en la concentración de IgG específica anti-neumococo en niños que asisten a la junta de infección recurrente.

Establecer las características clínicas de los niños con SIR que asisten a la junta de infección recurrente en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva.

4. ANTECEDENTES

Desde el año 1995, se planteó la hipótesis sobre si la capacidad alterada para responder a los antígenos capsulares de polisacáridos de *Streptococcus pneumoniae* puede estar asociada con una deficiencia de subclases de IgG e infecciones respiratorias recurrentes, especialmente en niños.

En este año se tuvo el objetivo de identificar a los niños con otitis media recurrente, sinusitis o neumonía que tuvieron títulos bajos o ausentes de anticuerpos neumocócicos como su única manifestación de inmunodeficiencia y también de determinar su respuesta a la vacuna neumocócica de 23 serotipos. De 100 niños con títulos bajos de anticuerpos antineumocócicos, 87 generaron una respuesta de anticuerpos protectores a la vacuna antineumocócica, mientras que 13 respondieron mal o no respondieron. Se identificaron dos subpoblaciones clínicamente distintas de niños con infecciones respiratorias recurrentes caracterizadas por su capacidad de respuesta a antígenos neumocócicos: un grupo no respondió a la vacunación neumocócica, mientras que el otro grupo respondió clínica y serológicamente. Se concluyó que la subpoblación del 6,5% que no responde tiene un defecto aparentemente aislado en la producción de anticuerpos antineumocócicos asociado con infecciones respiratorias recurrentes a pesar de los niveles normales de subclases de IgG.⁽¹⁾

Un año más adelante, se evaluaron los títulos de anticuerpos IgG pre inmunización y pos inmunización contra los serotipos neumocócicos 3, 7F, 9N y 14 en una población de 100 niños de 1 a 18 años remitidos debido a infecciones respiratorias recurrentes. Se obtuvo que, antes de la inmunización, el 50% de los pacientes no tenían niveles de anticuerpos protectores contra ninguno de los serotipos evaluados. La inmunización indujo una alta respuesta al serotipo 3 en todos los grupos de edad, pero las respuestas a los serotipos 7F y 14 aumentaron con la edad. Cinco de los 78 pacientes (6,4%) no desarrollaron niveles de anticuerpos protectores contra ningún serotipo probado. Tres de estos pacientes tenían criterios clínicos que justificaban el uso de la terapia de reemplazo de IgG. Se concluyó que la medición de los niveles de anticuerpos contra el serotipo 3 neumocócico permite una buena diferenciación de los pacientes que pueden desarrollar anticuerpos anti-polisacáridos de aquellos que no; además, en aquellos años se llegó a la conclusión de que estudios adicionales sobre el desarrollo de anticuerpos específicos contra otros serotipos de vacunas en poblaciones normales de diferentes edades se necesitan para definir una respuesta normal a los polisacáridos neumocócicos.⁽²⁾

De esta manera, a mediados de la década de los 90, los estudios se enfocaron en pacientes pediátricos que sufrían infecciones recurrentes especialmente otitis

media. Estos estudios tuvieron relación en el estudio de la respuesta de anticuerpos antes y después de la vacunación contra neumococo, y también, sus resultados fueron similares en arrojar que los pacientes con infecciones recurrentes presentaban una respuesta humoral ineficaz y recomendaban utilizar este criterio para diagnosticar IDP, así como recomendar el estudio de otras vacunas para este criterio.

En 1998, se propuso la hipótesis sobre si los niños con infecciones respiratorias recurrentes que no respondieron a la vacuna de polisacáridos convencional responderían a una vacuna neumocócica conjugada. Los niños remitidos a la clínica para infecciones respiratorias recurrentes que no tenían inmunodeficiencias primarias o secundarias conocidas se inmunizaron con una vacuna antipoliéctica polisacárido de 23 serotipos. Los anticuerpos IgG contra los serotipos neumocócicos 1, 3, 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F se determinaron mediante un ensayo inmunoenzimático y de 4 a 6 semanas después de la inmunización. Una respuesta adecuada de anticuerpos IgG a un serotipo individual se definió arbitrariamente como un título de anticuerpos pos inmunización ≥ 1.3 mcg/ml o al menos 4 veces el valor de la pre inmunización. La inmunización con una vacuna experimental conjugada neumocócica heptavalente CRM197 se ofreció a pacientes sin una respuesta adecuada a 4 o más serotipos de vacunas (no respondedores).

Las concentraciones de anticuerpos de inmunización post conjugada se midieron de 4 a 6 semanas después. Los resultados fueron que en pacientes no respondedores (n= 17) la media geométrica de inmunización post-conjugada (C) las concentraciones séricas de anticuerpos (mcg/ml) en comparación con las concentraciones post-polisacárido (PS) fueron: (serotipo, C vs. PS) 4, 1.11 vs. 0.30 (P= 0,000227); 6B, 0,46 frente a 0,20 (P= 0,017267); 9V, 0.82 vs. 0.29 (P = 0.002163); 14, 1.88 vs. 0.27 (P= 0.000615); 18C, 0,98 frente a 0,32 (P= 0,021962); 19F, 1.24 vs. 0.34 (P= 0.002844); y 23F, 0.87 vs. 0.16 (P= 0.000194). En pacientes que respondieron (n= 67), después de 1 dosis de la vacuna de polisacárido, las concentraciones geométricas medias de anticuerpos fueron: 4, 1.05; 6B, 0,96; 9V, 1.55; 14, 1.65; 18C, 1.62; 19F, 1,30; y 23F, 1.02. Finalmente, se concluyó que una vacuna antineumocócica conjugada es capaz de inducir una respuesta de IgG en pacientes con infecciones recurrentes que no lograron obtener una respuesta adecuada a la vacuna de polisacáridos y que las vacunas conjugadas pueden ser valiosas en el tratamiento de niños con infecciones respiratorias neumocócicas recurrentes.⁽³⁾

Se desarrollaron avances en el estudio de estas entidades. Por ejemplo, se determinó que una respuesta adecuada de anticuerpos IgG como un título de anticuerpos pos inmunización ≥ 1.3 mcg/ml o al menos 4 veces el valor de la

pre inmunización, valor que se mantiene hoy en día. También, tomó fuerza la terapia de reemplazo de Ig como tratamiento de elección en estos pacientes.

Otro punto de vista acerca de la deficiencia de anticuerpos en pacientes con síndrome de infección recurrente es el conjunto de características clínicas que presentan estos pacientes dependiendo de la infección que sufran. Hasta el año 2006 se desconocían las características clínicas de estos pacientes debido a que no habían sido bien descritas; por lo tanto, se realizó un estudio evaluando formalmente el síndrome clínico de deficiencia específica de anticuerpos (DEA), comparando las características clínicas de los niños con DEA y los niños con infección recurrente, pero con pruebas de función inmunológica normales. La DEA se definió como una respuesta adecuada de anticuerpos IgG a menos del 50% de los 12 serotipos neumocócicos analizados después de la inmunización neumocócica no conjugada 23 serotipos.

Una respuesta adecuada de anticuerpos IgG se definió como un título posterior a la inmunización de $> 0 = 1.3$ mcg/ml o $> 0 =$ cuatro veces el valor de la pre inmunización. Resultaron setenta y cuatro niños con infección recurrente que fueron evaluados donde se habían excluido deficiencias inmunitarias distintas de la DEA. Once (14,9%) de estos niños tenían DEA. Las características clínicas diferían entre el grupo con DEA y el grupo con respuestas de anticuerpos normales. La historia de otitis media, particularmente en asociación con la otorrea crónica, se asoció con DEA [RR de DEA en las personas con otorrea crónica 4.64 (P = 0.02)]. DEA se asoció con enfermedad alérgica, particularmente rinitis alérgica [RR de DEA en pacientes con rinitis alérgica 3.77 (P = 0.04)]. Se concluyó que la DEA tiene un fenotipo clínico distinto, que se presenta como una infección recurrente asociada con la otorrea crónica y/o la enfermedad alérgica, y la condición se debe buscar en niños con estas características.(4) Muy importante para poder caracterizar y reconocer a un paciente con IDP especialmente deficiencia de anticuerpos específica.

Una característica muy importante que se planteó en estos pacientes con síndrome de infección recurrente y con deficiencia de anticuerpos para la vacuna contra neumococo es su uso como diagnóstico temprano para la aplicación de un esquema terapéutico.

De esta manera, un estudio realizado en 2013, evaluó la deficiencia selectiva de anticuerpos en pacientes con infecciones pulmonares recurrentes y su relación con las deficiencias de las subclases de IgG. Fue un estudio de casos y controles, el título de anticuerpos antineumocócicos e IgG2, los niveles de IgG3 antes de la inyección de la vacuna neumocócica y el título de anticuerpos antineumocócicos al

menos 4 semanas luego de la vacunación se midió en 46 pacientes y 54 controles. La media de anticuerpos antineumocócicos antes y después de la vacunación fue significativamente diferente en casos y controles y fue mayor en el grupo de control. Los títulos de anticuerpos antineumocócicos en el 97,8% de los casos y en el 100% de los grupos de control fueron normales ($> 3,4 \mu\text{g} / \text{ml}$). El 34,8% de los casos y el 9,1% de los controles tenían títulos bajos de anticuerpos antineumocócicos ($< 20 \mu\text{g}/\text{ml}$), mientras que el 18,7% de los casos y ningún control no respondió a la vacuna. Se tomó como conclusión que la evaluación del título de anticuerpos antineumocócicos en pacientes con infecciones respiratorias crónicas y recurrentes con niveles normales de inmunoglobulina parece ser necesaria como diagnóstico temprano.⁽⁵⁾

Gracias a esto se estableció que la respuesta a los antígenos de polisacáridos es una prueba para evaluar la competencia inmunológica de los niños con infecciones respiratorias recurrentes (IRR) de causa desconocida y sin otras anomalías del sistema inmunitario. Con el fin de detectar la deficiencia de anticuerpos específicos (DAE), se estudió prospectivamente un grupo de niños con IRR sin otra inmunodeficiencia. Se incluyeron 20 niños (12 hombres), rango de edad 3 a 14 años, con seis o más episodios anuales de infecciones respiratorias (IR); uno o más episodios mensuales de RI durante los meses de invierno; o tres o más episodios anuales de menor RI. Los niños fueron inmunizados con la vacuna antineumocócica polisacárido 23 serotipos, y se usó ELISA para medir los niveles de anticuerpos IgG anti polisacáridos para 10 serotipos de neumococo al inicio (T0), y 45 días (T1) y un año después de la inmunización (T2). La respuesta posterior a la inmunización por encima de $1,3 \text{ g}/\text{ml}$ para más del 50% de los serotipos se consideró normal en niños de 2 a 5 años, y en más del 70% de los serotipos en niños mayores de 5 años. Se obtuvo que en el T1 19/20 niños mostraron una respuesta normal para su edad y solo un paciente mostró una respuesta deficiente, lo que sugiere una DEA moderada clásica. En T2, 8/20 pacientes mostraron respuestas deficientes, lo que sugiere una persistencia deteriorada de anticuerpos específicos. Hubo una asociación notable entre la respuesta deficiente y el asma y la rinitis alérgica. Como conclusión se propuso descartar primero las causas locales o sistémicas, luego realizar inmunoglobulina sérica IgM, IgG, IgA, IgE e IgG, y finalmente medir la respuesta a antígenos neumocócicos polisacáridos para la detección de DEA.⁽⁶⁾

Junto a la respuesta de antígenos neumocócicos polisacáridos se recomendó medir los niveles de inmunoglobulina sérica como método para el diagnóstico de IDP, método que no predomina en la práctica clínica. Así mismo, el ELISA es el método de elección para cuantificar la respuesta de anticuerpos contra la vacuna neumococo utilizado en todos los estudios debido a que es barato y fácil de realizar.

En el año 2016, se analizó la respuesta inmune específica a la vacuna polisacárido neumocócica 23 serotipos mediante la medición de anticuerpos neumocócicos en niños con asma y con infección recurrente respiratoria (IRR) en comparación con niños sanos. El estudio incluyó a 60 niños, divididos en tres grupos: 20 con asma, 20 con RRI y 20 controles sanos. Se midieron los anticuerpos IgG específicos posteriores a la vacunación contra 10 serotipos neumocócicos (S1, S3, S4, S5, S6B, S9V, S14, S18C, S19F y S23F) contenidos en la vacuna de polisacáridos neumocócicos (PPV) 23 serotipos. Una concentración específica de IgG $\geq 1.3 \mu\text{g/mL}$ se consideró una respuesta protectora a la vacuna. Todos los niños mostraron niveles de anticuerpos antineumocócicos $>1.3 \mu\text{g/mL}$ para más del 70% de los serotipos, considerados dentro del rango normal de respuesta. Se concluyó los niños asmáticos con infecciones recurrentes deben ser evaluados para detectar deficiencia específica de anticuerpos (DEA). Debido a que los pacientes con asma tienen un alto riesgo de infecciones neumocócicas invasivas, valdría la pena explorar la administración sistemática de la VPP en niños mayores de dos años que no han recibido una vacuna antineumocócica conjugada, considerando la respuesta positiva a la VPP que se informa aquí.⁽⁷⁾

En aquellos niños con síndrome de infección recurrente se sospecha extensamente una inmunodeficiencia primaria pero específicamente una deficiencia específica de anticuerpos. Se desconocía la proporción de pacientes que cumplían criterios para síndrome de infección recurrente y que pueden tener esta enfermedad.

En el año 2017, se describieron las características de los pacientes diagnosticados con DEA, enfatizando la asociación entre la inmunodeficiencia primaria y las enfermedades alérgicas. Fue un estudio descriptivo que muestra a pacientes con DEA tratados en un hospital público entre agosto de 2007 y julio de 2015. El diagnóstico de DEA se basó en infecciones recurrentes y respuesta anormal a la vacuna neumocócica polisacárido evaluada por IgG específica a 10 serotipos. Se incluyeron 12 pacientes, 4 varones, edad media 6 años. La neumonía recurrente fue la enfermedad más común (91,7%), así como otras infecciones respiratorias e invasivas. Todos los pacientes tenían asma asociada, 11 tenían rinitis alérgica y otras alergias. Tres pacientes no respondieron a ninguno de los 10 serotipos contenidos en la vacuna antineumocócica polisacárido, y los pacientes que respondieron mostraron respuesta a títulos bajos. El tratamiento con vacuna antineumocócica conjugada fue favorable en 11/12 pacientes. Se concluyó que en niños mayores de 2 años con infecciones respiratorias recurrentes o infecciones invasivas por *S. pneumoniae* con inmunoglobulina normal se debe investigar DEA, especialmente si tienen una enfermedad alérgica concomitante.⁽⁸⁾

Con ello, se logró establecer que niños que padecen infecciones respiratorias recurrentes o infecciones invasivas por *S. Pneumoniae* se debe investigar DEA

proponiendo otras infecciones de tipo recurrentes sugestivas para el diagnóstico de DEA.

A nivel local, se tienen dos estudios. El primero del año 2007, con el objetivo de describir el comportamiento de las inmunodeficiencias primarias en los niños menores de 15 años que acuden a la consulta de infección recurrente en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo, durante el periodo comprendido entre enero de 2004 y enero de 2007. Se realizó un estudio descriptivo retrospectivo de serie de casos. Los datos fueron obtenidos de fuentes secundarias mediante una revisión documental de la historia clínica. Se observó una mayor presentación de casos en el sexo masculino correspondiendo al 60% de la muestra. Los infantes más afectados fueron los menores de 2 años, particularmente aquellos entre los 6 y los 12 meses. El principal lugar de procedencia fue el departamento del Huila. La frecuencia de las inmunodeficiencias primarias, dentro de los niños atendidos en la consulta de infección recurrente del HUN, se encontró que era del 52.08%, siendo la Neumonía la principal infección en 22 pacientes durante el curso de su enfermedad. El tipo de inmunodeficiencia, de mayor presentación en nuestro medio es la deficiencia de anticuerpos, con el 56% de los pacientes diagnosticados y específicamente la inmunodeficiencia de inmunoglobulina G.⁽⁹⁾

El segundo estudio realizado en el año 2014, acerca de la respuesta de anticuerpos totales y específicos de neumococo en niños con síndrome de infección recurrente, con el fin de determinar las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes, posteriormente, 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.

Teniendo en cuenta los resultados arrojados por los estudios a nivel internacional, los cuales establecen similitudes en los objetivos y metodología, esto debido a que buscan establecer las inmunodeficiencias en pacientes con infecciones recurrentes

por medio de la medición por ELISA de IgG específica anti neumococo. Pero, también presentan diferencias en la población y muestra, debido a que emplean diferentes grupos de muestras, como pacientes con otitis media recurrente e infecciones respiratorias recurrentes, pero no con pacientes pediátricos que cumplan criterios de síndrome de infección recurrente. A nivel local, la población y muestra ha sido congruente con la del presente estudio, por lo tanto, sirven de buen complemento para el presente estudio para lograr obtener resultados y conclusiones con mayor validez.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 INMUNODEFICIENCIAS PRIMARIAS (IDP)

El sistema inmunológico es una compleja red de células y moléculas responsables de preservar la homeostasis del tejido al brindar defensa contra patógenos, realizar la vigilancia inmunológica de tumores y mantener la tolerancia inmunológica.

Los trastornos de inmunodeficiencia primaria (IDP) son trastornos clínicamente heterogéneos, la mayoría de los cuales surgen de defectos genéticos en genes inmunológicamente relevantes.⁽¹⁹⁾

Se pensaba que los IDP se asociaban exclusivamente con infecciones recurrentes. Sin embargo, a medida que nuestra comprensión de la complejidad de las redes celulares y de señalización ha crecido, se ha hecho cada vez más evidente que las consecuencias clínicas de las mutaciones en los genes de IDP se extienden mucho más allá de la susceptibilidad a la infección con bacterias, virus y organismos oportunistas. Los fenotipos de desregulación inmune de las IDP son comunes e incluyen autoinmunidad multiorgánica, malignidad (particularmente hematológica) y patología auto inflamatoria como los síndromes de fiebre periódica. Estas patologías no son mutuamente excluyentes y a menudo se ven en combinación. Además, diferentes mutaciones en el mismo gen pueden llevar a diferentes presentaciones de PID, dependiendo de si el efecto neto es ganancia de función o pérdida de función en el nivel de proteína.⁽¹⁹⁾

La mayoría de las IDP causan síntomas en la vida temprana. Sin embargo, la agrupación heterogénea de síntomas a menudo resulta en un diagnóstico tardío, en detrimento del paciente. Las presentaciones en adultos de IDP tienden a reflejar enfermedades poli génicas.⁽¹⁹⁾

El cuadro clínico general está determinado por el tipo específico de defecto inmunitario subyacente. Según el tipo de IDP, los tipos de infecciones pueden variar. Si bien las infecciones bacterianas pueden ser una característica clave de los defectos de las células B, las infecciones con diversos patógenos (por ejemplo, virus, hongos y bacterias) son una característica de las inmunodeficiencias combinadas de células T y B. De manera similar, las manifestaciones autoinmunes pueden ir desde citopenias autoinmunes secundarias a defectos de células B hasta lupus eritematoso sistémico en trastornos del complemento. Por lo tanto, los tipos

de manifestaciones y la participación de otros sistemas pueden proporcionar una pista para el tipo de IDP.⁽²⁰⁾

El diagnóstico de las IDP es desafiante por múltiples razones: debido a que las IDP son raras, se necesita un alto índice de sospecha, los individuos con la misma IDP pueden tener diferentes manifestaciones y la mayoría de los IDP carecen de características patognomónicas, los individuos con un defecto en el mismo gen pueden tener diferentes presentaciones clínicas, las pruebas de detección no son específicas, los resultados normales de la prueba de detección no descartan la PID, algunas de las pruebas de laboratorio de diagnóstico utilizan técnicas especializadas que no están disponible en laboratorios comerciales.⁽²⁰⁾

Una historia meticulosa y un examen físico completo son críticos para diagnosticar IDP. Las pistas para el diagnóstico correcto pueden incluir antecedentes de infecciones recurrentes, presencia de miembros de la familia afectados, hallazgos físicos relacionados con el crecimiento y desarrollo y presencia o ausencia de tejido linfático periférico. Se deben descartar las causas de las IDP secundarias, como los medicamentos, el VIH, la desnutrición y las condiciones de pérdida de proteínas. En el diagnóstico diferencial deben considerarse otras afecciones que predisponen a infecciones recurrentes. Por ejemplo, las infecciones pulmonares recurrentes pueden ser una característica de la fibrosis quística, la disinesia ciliar primaria, la bronquiectasia o las alergias ambientales. De manera similar, las infecciones cutáneas recurrentes pueden ser secundarias a la dermatitis atópica.⁽²⁰⁾

La evaluación de laboratorios de los pacientes con sospecha de IDP suele ser de dos o tres niveles, comenzando con los laboratorios de detección y seguidos de pruebas diagnósticas y moleculares definitivas. Algunas de las pruebas útiles, pero a menudo olvidadas incluyen frotis de sangre periférica, tasa de sedimentación eritrocitaria y proteína C reactiva. En los últimos cinco años, la evaluación de recién nacidos para TRECs (círculos de escisión del receptor de células T) ha cambiado el paradigma de la evaluación de detección. En las pruebas de detección los resultados pueden verse afectados por diversos factores externos, como la edad o el manejo de la muestra. Por ejemplo, las pruebas de isohemaglutininas no se pueden realizar de manera confiable hasta los 6 meses de edad; los ensayos de proliferación de linfocitos a la estimulación de antígenos pueden verse afectados antes de 1 año de edad; y la respuesta al antígeno polisacárido es subóptima hasta después de los 24 meses de edad. Por lo tanto, los resultados de las pruebas siempre deben compararse con los valores de referencia apropiados para la edad. Las pruebas de segundo nivel se realizan según las características clínicas y los resultados de las pruebas de detección. Se debe prestar especial atención a las técnicas de laboratorio utilizadas como resultados y los rangos normales pueden variar según la técnica. Algunas de estas pruebas se realizan en laboratorios de

investigación y tienen una disponibilidad limitada en laboratorios clínicos. Por ejemplo, aunque la mayoría de los laboratorios disponen de marcadores de células T, B y NK básicos mediante citometría de flujo, las pruebas para evaluar la señalización de linfocitos tienen una disponibilidad limitada. Esta disponibilidad limitada también limita la experiencia y la experiencia en la interpretación de estas pruebas a centros académicos limitados. El diagnóstico molecular definitivo se realiza con más frecuencia ahora que la secuenciación de la próxima generación (NGS) ha permitido señalar la etiología molecular.⁽²⁰⁾

5.2 DEFICIENCIA ESPECÍFICA DE ANTICUERPOS (DEA)

La deficiencia específica de anticuerpos (DEA) es una enfermedad de inmunodeficiencia primaria (IDP) caracterizada por inmunoglobulinas normales (Igs), IgA, IgM, IgG total y niveles de subclase de IgG, pero con infección recurrente y respuestas de anticuerpos disminuidas a los antígenos de polisacáridos después de la vacunación. Al igual que con otras formas de deficiencia de anticuerpos, se asocia más comúnmente con infecciones bacterianas respiratorias recurrentes.⁽²¹⁾

La deficiencia específica de anticuerpos se informó por primera vez en pacientes adultos y pediátricos en la década de 1980. Inicialmente se describió como deficiencia de la subclase IgG2 con una incapacidad para generar títulos medibles de respuesta de anticuerpos a polisacáridos neumocócicos y actualmente también se denomina deficiencia parcial de anticuerpos o capacidad de respuesta deficiente del polisacárido (código ICD10 D80.6). Existe cierta confusión con respecto a la relación entre los niveles de subclases de DEA e IgG y el controvertido diagnóstico de la deficiencia de subclases de IgG. Más recientemente, estos diagnósticos se consideran distintos, y la designación de DEA se reserva para la respuesta deficiente de la vacuna de polisacárido con niveles de isotipo de Ig completamente normales. La DEA imita la respuesta inmunitaria deficiente que se observa a menudo en niños pequeños sanos y en bebés que no pueden desarrollar una respuesta robusta a los antígenos de polisacáridos no conjugados puros, como el polisacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* y el polisacárido capsular de *Haemophilus influenzae* tipo b. Una respuesta inmunitaria saludable normalmente se desarrolla a los 2 años de edad, pero puede demorar más en algunos niños. Como resultado, el diagnóstico no debe ser conferido hasta después de los 2 años de edad. Sin embargo, se debe tener en cuenta que algunos niños menores de 2 años (tan solo 1 año) pueden desarrollar respuestas sólidas a las vacunas de polisacáridos.⁽²¹⁾

La prevalencia de IDP varía según el tipo de inmunodeficiencia. En tres estudios que evaluaron niños con infección recurrente (n= 100, 45 y 100, respectivamente),

se encontró que la deficiencia selectiva de anticuerpos (DSA) se presentaba en 6 a 14% de los individuos. Sin embargo, en una revisión de la tabla de 91 niños remitidos para la evaluación inmunológica de infecciones recurrentes, el 23,1% había sido diagnosticado con DSA. Además, en 1 estudio retrospectivo de 129 adultos con rinosinusitis crónica, 11,6% fueron diagnosticados con DSA, mientras que en otros dos estudios retrospectivos similares también de adultos con rinosinusitis crónica, 23% (n = 239) y 24% (n = 595) fueron diagnosticados con DEA. Se ha informado que la prevalencia de DEA en adultos con neumonía recurrente es aproximadamente del 8%.⁽²⁰⁾

5.3 STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE (NEUMOCOCO)

El estreptococos pneumoniae, o comúnmente conocido como neumococo, es un diplococo Gram positivo de tipo anaerobio facultativo.⁽²²⁾ Esta bacteria es considerada como el principal patógeno que afecta el tracto respiratorio superior, principalmente en niños menores de cinco años y en los mayores de 65 años.⁽²³⁾ Debido a sus múltiples factores de virulencia, posee la capacidad de producir diversas patologías, las cuales puede variar desde afectación local, tales la otitis media, hasta una invasión de tipo sistémica, ya sean; neumonía, meningitis y sepsis.⁽²²⁾ Por otro lado, cabe resaltar que, además de ser un patógeno importante, forma parte de la flora microbiana normal de la nasofaringe, lugar a partir del cual puede generar invasión a través de la mucosa, y posterior diseminación para el desarrollo de la enfermedad invasiva.⁽²⁴⁾ La prevalencia de colonización nasofaríngea ronda el 37% en menores de 2 años, y generalmente puede ser por diversos serotipos.⁽²⁵⁾

El neumococo se caracteriza por una amplia variedad de factores de virulencia y patogenicidad. Sin embargo, el más importante lo conforma la cápsula polisacárido. Esta es la estructura más superficial, y está encargada de evitar la fagocitosis, al tiempo que es el principal componente a partir del cual se genera la respuesta de anticuerpos. Al mismo tiempo, la cápsula favorece variabilidad, que conlleva a la clasificación de más de 90 serotipos de esta bacteria, pero de los cuales solo 15 generan infección invasiva en los humanos.^(26,27) En Colombia, a través SIREVA de la OPS, se inició la vigilancia de la distribución de los serotipos capsulares y la susceptibilidad microbiana de los aislamientos de *S. pneumoniae* causantes de enfermedad invasiva en niños menores de 6 años. Este proyecto ha permitido establecer que los 9 serotipos más importantes para este grupo de población son en su orden el 14, 6B, 23F, 1, 5, 6A 19F, 18C y 9V (Instituto Nacional de Salud).

Desafortunadamente, durante muchos años solo estuvieron disponibles las vacunas de polisacáridos. Debido a que la inmunogenicidad y la eficacia de estas

preparaciones en niños menores de dos años de edad eran muy deficientes, el uso de vacunas de polisacáridos, incluida la vacuna polisacárido neumocócica de 23 valencias (PPV23), se limitó a niños mayores y adolescentes con mayor riesgo de infección por neumococo por enfermedad grave crónica subyacente.⁽²⁸⁾

A finales del siglo pasado, se desarrollaron vacunas neumocócicas conjugadas (PCV). La conjugación de polisacáridos neumocócicos con un vehículo proteico se identificó como la mejor solución para transformar polisacáridos de T-independientes en antígenos dependientes de T. Como resultado de esta alteración, las vacunas pudieron provocar una respuesta inmunitaria protectora en los niños más pequeños contra los serotipos neumocócicos que se incluyeron en cada vacuna. Entre las diferentes preparaciones, la vacuna de conjugado neumocócico 7 Valente (PCV7) que contiene los siete serotipos que se identificaron con más frecuencia como agentes causantes de la DPI fue autorizada en los EE. UU y se usó ampliamente en todo el mundo. El impacto de PCV7 fue dramático. Los programas nacionales de inmunización que implementan PCV7 redujeron exitosamente las tasas de IPD de tipo de vacuna y colonización directamente a través de niños inmunizados y, en algunos entornos, indirectamente a través de efectos en individuos no inmunizados. Desafortunadamente, el uso de PCV7 estuvo acompañado por el llamado fenómeno de reemplazo [8], que se refiere a la presencia de otros serotipos en la nasofaringe de sujetos vacunados que reemplazan los serotipos incluidos en PCV7 que habían sido erradicados en estos sujetos.

Como resultado, hubo un aumento en la incidencia de la IPD y otras enfermedades neumocócicas debidas a los serotipos no incluidos en PCV7, tanto en niños vacunados con PCV7 como en individuos no vacunados. Aunque el fenómeno de reemplazo solo redujo en parte las ventajas conferidas por PCV7, se prepararon, licenciaron y comercializaron nuevos PCV que cubren un mayor número de serotipos. Por otro lado, un aumento en el número de serotipos incluidos en las nuevas preparaciones neumocócicas permitiría hacerlos más efectivos en la prevención de la EPI en aquellos países donde la incidencia de estas enfermedades debidas a los serotipos incluidos en PCV7 fue menos relevante y otros serotipos fueron los principales patógenos. Las vacunas que contienen 10 (PCV10) y 13 (PCV13) [10] serotipos han estado en el mercado durante algunos años y actualmente son ampliamente utilizadas en muchos países. Además, debido a un segundo fenómeno de reemplazo que se identificó, se están desarrollando otras vacunas en las que se agregaron otros serotipos. La preparación de un nuevo PCV que cubre 15 serotipos (PCV15) es el mejor ejemplo de este nuevo esfuerzo.⁽²⁸⁾

5.4 SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE (SIR)

Los niños con síndrome de infección recurrente durante los primeros 5 años de vida, incluso con un sistema inmunológico normal, pueden experimentar de 6 a 8 infecciones del tracto respiratorio por año, especialmente durante las temporadas de otoño e invierno. La asistencia a guarderías y la exposición a fumadores son factores de riesgo ambientales comunes. lo que puede aumentar el número de infecciones respiratorias hasta 10-12 episodios por año en niños.⁴ A veces, incluso hasta 15 infecciones por año pueden estar dentro del rango normal. Además, es difícil para los pediatras contar una frecuencia precisa de infecciones para considerar el término de infección recurrente. Al definir las infecciones recurrentes, en lugar del número de infecciones, la naturaleza y el patrón de las infecciones, como la gravedad, la infección de larga duración, el tratamiento resistente, la infección de microorganismos inusuales y las complicaciones inusuales son importantes.⁽²⁹⁾

Las infecciones recurrentes pueden ser causadas por diferentes factores de riesgo y trastornos subyacentes, como alergias, anomalías anatómicas y funcionales y deficiencias inmunitarias primarias y secundarias. La aparición de infecciones en un sistema orgánico sugiere la existencia de enfermedades subyacentes, como alergias, anomalías anatómicas o funcionales en el órgano afectado, mientras que los defectos en el sistema inmunológico hacen que los pacientes sean susceptibles a una variedad de infecciones en diferentes órganos. Sin embargo, la mayoría de los niños con antecedentes de infección recurrente están sanos. Los niños pequeños en condiciones especiales pueden tener hasta 15 episodios de infección por año; incluso con un sistema inmunológico saludable. Por lo tanto, es importante distinguir a estos niños sanos de los niños con trastornos subyacentes.⁽²⁹⁾

6. HIPOTESIS

6.1 HIPÓTESIS ALTERNATIVA

En los pacientes vacunados contra el neumococo que asisten a la junta por síndrome de infección recurrente en más del 50% hay una respuesta no protectora menor de 1.32 ug/ml.

6.2 HIPÓTESIS NULA

En los pacientes vacunados contra el neumococo que asisten a la junta por síndrome de infección recurrente en todos hay una respuesta protectora mayor de 1.32 ug/ml.

7. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICIÓN	SUBVARIABLE	INDICADOR	NIVEL DE MEDICIÓN
Características sociodemográficas	Conjunto de características biológicas, sociales, económicas y culturales presentes en la población sujeta a estudio	Edad	Número de años	Razón
		Sexo	Masculino Femenino	Nominal
Características clínicas	Conjunto de características que definen el proceso de enfermedad de los pacientes	Diagnósticos	Infecciones	Nominal
		Hospitalizaciones	Número de hospitalizaciones	Nominal
		Tratamiento	Tipo de tratamiento	Nominal

OPERACIONALIZACIÓN DE inmunodeficiencias	Estado patológico en el que el sistema inmunitario no cumple con el papel de protección que le corresponde dejando al organismo vulnerable a la infección	Anticuerpos IgG específicos	µg/ml	Razón
		Deficiencia predominante de anticuerpos (DPA)	µg/ml	Razón

8. DISEÑO METODOLÓGICO

8.1 TIPO DE ESTUDIO

El presente proyecto de investigación es un estudio observacional descriptivo y retrospectivo de casos con dos grupos de comparación. Es observacional, puesto que su objetivo sólo 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 en el periodo comprendido entre el año 2012 a 2016; por último, es de serie de casos ya que se busca describir el cuadro clínico de la patología de los pacientes y métodos diagnósticos.

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, Huila, el cual es 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

La población de estudio son niños que padecen infecciones recurrentes en edad comprendida entre 1 y 14 años que asistieron a la junta de infección recurrente en el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva, en el periodo comprendido entre el año 2012 a 2016. Niños voluntarios sanos entre 1 y 14 años de edad provenientes de una institución educativa de la ciudad de Neiva.

8.4 MUESTRA

Se utilizó una muestra de tipo no representativa, de sujetos voluntarios, donde se seleccionaron 10 niños entre 1 y 14 años con síndrome de infección recurrente anormal, criterios definidos por el Comité Internacional de Inmunodeficiencias primarias. De igual manera, 20 niños clínicamente sanos, de edad comprendida

entre 1 y 14 años provenientes de una institución educativa de la ciudad de Neiva, sin presencia de infecciones recurrentes y con un examen físico normal.

8.5 MUESTREO

Se utilizó un muestreo de tipo no probabilístico por conveniencia de sujetos voluntarios, los cuales fueron 10 niños entre 1 y 14 años de edad; estos pacientes llegan a la junta de infección recurrente en el HUHMP de Neiva, se les informa a los padres que ingresar al estudio les será de mucha ayuda debido a que se logrará determinar la causa de la patología y aportará al conocimiento médico; posteriormente, se ingresa la información a una base de datos y a partir de esta se determinarán aquellos con síndrome de infección recurrente, criterios definidos por el Comité Internacional de Inmunodeficiencias primarias. También, harán parte 10 niños con edades comprendidas entre 1 y 14 años provenientes de una institución educativa de la ciudad de Neiva, sin presencia de infecciones recurrentes y con un examen físico normal, a cuáles se les realizaron exámenes clínicos normales de rutina a partir de sus muestras de sangre.

8.6 TÉCNICAS

En el presente estudio se utilizará la técnica de revisión documental de las historias clínicas, la cual se llevará a cabo al desplazarse al HUHMP de Neiva, ingresar a la base de datos de las historias clínicas de los pacientes y observar las características médico-clínicas registrando los datos por medio del instrumento formulario previamente diseñado. También, la técnica de mediciones biofisiológicas in vitro de los pacientes del estudio, donde a partir de muestras de sangre venosa periférica, obtenida por técnica venoject, se cuantificó la IgG específica anti-neumococo por medio de ELISA, procedimiento que utiliza instrumentos como el espectrofotómetro, pipetas, placas y reactivos.

8.7 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se realizará la identificación de los 10 pacientes con síndrome de infección recurrente que asisten a la consulta del Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo de Neiva según los criterios del Comité Internacional de Inmunodeficiencias Primarias por medio de la revisión de la base de datos que tiene el I&I Lab. de estos pacientes y el posterior desplazamiento al HUHMP de Neiva. Se seleccionarán 10 niños controles sanos procedentes de una institución educativa de la ciudad de Neiva, estos niños no presentarán inmunodeficiencias y con examen

físico y paraclínicos normales al momento de la obtención de la muestra de sangre venosa total por técnica venoject, con previa aceptación y firma del consentimiento informado por parte de los padres o acudientes. Esta población se apareará en edad y sexo con la población de infección recurrente. Se generará una base de datos con los pacientes que cumplan los criterios de SIR para posteriormente solicitar las historias clínicas para la revisión de las características clínicas de los pacientes, diagnósticos y tratamiento. Se diligenciará 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 realizará la debida capacitación y adiestramiento en el laboratorio de inmunología de la facultad de salud de la Universidad Surcolombiana que cuenta 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. (Para ver el protocolo de la técnica experimental donde se especifican los instrumentos de recolección de datos y de procesamiento de muestras ver anexo F)

8.8 PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

Los datos que se obtendrán a partir de la revisión documental registrados en el formulario se almacenarán en hojas de cálculo del programa Microsoft office Excel 2016 del paquete de Microsoft office 2016; las cuales representarán la base de datos del estudio y serán la referencia de información a evaluar en nuestra investigación. Para el análisis estadístico de los datos se utilizará el software Grapad Prisma versión 7.0a, en el cual se usarán pruebas no paramétricas para la realización de comparaciones entre los grupos a evaluar, para el análisis de grupos independientes se utilizará la prueba de Mann-Whitney, para determinar el grado de correlación entre las variables se utilizará el Test de Fisher. Una $P < 0.05$ se considerará estadísticamente significativa en todos los casos. Se determinarán medidas de tendencia central y dispersión para las variables continuas.

8.9 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.

Este estudio no presenta conflicto de intereses.

9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En el presente trabajo se evaluaron 10 pacientes con SIRA y 10 pacientes voluntarios sanos. Se realizó la caracterización sociodemográfica y clínica de los pacientes con SIRA. También, se realizó la medición de anticuerpos específicos anti-neumococo en todos los pacientes, se encontraron valores protectores en 9 pacientes con SIRA en la mayoría de los serotipos evaluados y títulos inferiores al valor protector establecido en 1 paciente con SIRA.

9.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON SIRA

La distribución por género y edad se realizó en el grupo de pacientes con SIRA, el rango de edad fue de 1 y 4 años, con una mediana de 2 años. Con respecto al género, 7 pacientes correspondieron al género masculino y 3 pacientes al género femenino.

Se realizó la evaluación de las características clínicas de los pacientes con SIRA. Se determinó en los pacientes cuáles eran los criterios que cumplían para encajar como paciente con SIRA (tabla 1), los cuales debían cumplir como mínimo con 3 de estos criterios ya establecidos (Anexo C). Se encontró que el diagnóstico principal establecido para estos pacientes fue el de otitis media crónica supurativa (4 pacientes), seguido de síndrome febril prolongado (3 pacientes), neumonía bacteriana (2 pacientes) y diarrea persistente (1 paciente). (Tabla 2), lo cual presenta similitud debido a que la etiología más frecuente de la otitis media en nuestro medio es el neumococo y los pacientes presentan deficiencias en la respuesta inmune frente a este microorganismo.

Tabla 1. Criterios de anormalidad en los pacientes con SIRA

PACIENTES	CRITERIOS DE ANORMALIDAD QUE DEFINEN SIRA											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
SIRA 1	x	x	x									
SIRA 2	x		x	x			x					
SIRA 3	x		x				x					
SIRA 4	x	x	x									
SIRA 5	x	x	x									
SIRA 6	x	x	x	x								
SIRA 7	x	x	x	x								
SIRA 8	x	x	x	x								
SIRA 9	x	x	x									
SIRA 10	x	x	x									

Tabla 2. Características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con SIRA.

	Edad (años)	Sexo	IgG específica anti-neumococo (µg/ml)										Diagnóstico principal	Hospitalizaciones último año	Tratamiento antibiótico
			Pn 1	Pn 3	Pn 4	Pn 5	Pn 6B	Pn 9V	Pn 14	Pn 18C	Pn 19F	Pn 23F			
SIRA 1	2	Masculino	38,5	14,8	29,9	24,9	9,7	37,2	127,8	24,2	16,6	18,8	Otitis media crónica supurativa	3	Amoxicilina/Clavulonato
SIRA 2	3	Masculino	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	0,0	0,0	5,2	0,0	0,0	Otitis media crónica supurativa	4	Amoxicilina/Clavulonato Ciprofloxacina/Dexametasona
SIRA 3	4	Masculino	16,8	16,0	21,2	24,4	8,0	17,1	125,0	5,0	9,7	5,3	Otitis media crónica supurativa	3	Amoxicilina/Clavulonato
SIRA 4	4	Masculino	18,8	6,5	20,3	23,8	6,2	33,6	128,6	10,9	33,9	6,2	Síndrome febril prolongado	3	Amoxicilina
SIRA 5	2	Masculino	10,7	3,7	5,6	6,5	5,6	17,1	32,4	5,9	9,2	5,9	Neumonía bacteriana	4	Amoxicilina
SIRA 6	2	Masculino	14,9	6,9	18,8	17,7	5,8	18,4	127,6	11,0	17,3	9,4	Neumonía bacteriana	9	Claritromicina
SIRA 7	1	Masculino	35,3	14,7	21,4	25,3	8,3	37,4	129,3	23,5	35,5	11,1	Síndrome febril prolongado	10	Ceftriaxona
SIRA 8	2	Femenino	38,2	15,2	21,8	25,2	8,8	37,5	124,0	21,2	34,8	20,7	Otitis media crónica supurativa	3	Neomicina/Polimixina
SIRA 9	3	Femenino	37,4	13,8	21,3	24,8	9,6	36,7	129,0	20,6	40,4	19,8	Diarrea persistente	4	Ceftriaxona
SIRA 10	1	Femenino	37,0	15,4	22,8	25,0	9,1	38,2	129,9	21,6	37,4	21,6	Síndrome febril prolongado	5	Amoxicilina/Clavulonato

el mismo paciente (SIRA 2) tuvo títulos de anticuerpos no protectores, con títulos iguales a 0 ug/ml. Esto corresponde a que el paciente SIRA 2 presenta títulos no protectores de anticuerpos específicos contra los dos serotipos asociados a una menor y mayor respuesta (Pn 3 y Pn 14). Además, como se evidencia en la tabla 2, el paciente SIRA 2 presenta una respuesta deficiente (no protectora) para 8 de los 10 serotipos evaluados, es decir, más del 50% de los serotipos (Grafica 3).

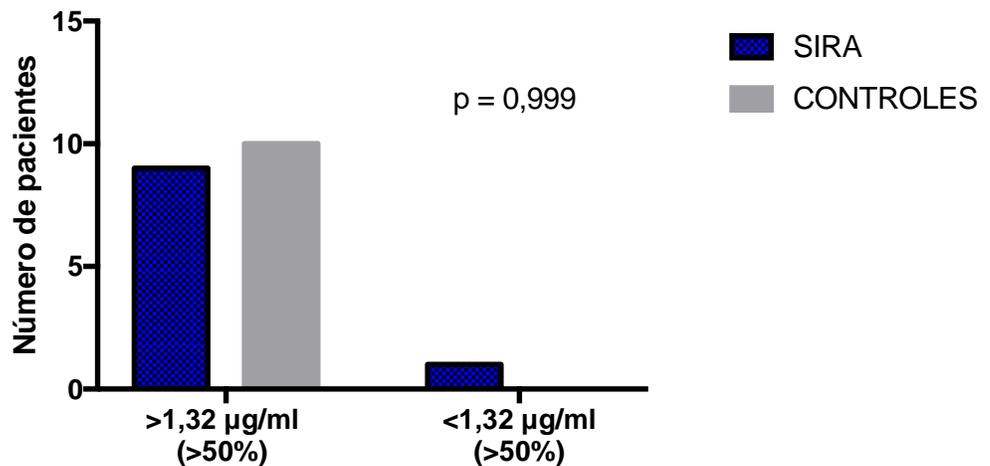
Tabla 3. Tabla de contingencia pacientes SIRA y controles sanos.

DPA	SIRA	CONTROLES	TOTAL
>1,3 µg/ml (>50% serotipos)	9	10	10
<1,3 µg/ml (>50% serotipos)	1	0	10
TOTAL	10	10	20

p = 0,999 Test de Fisher

Grafica 3. Número de pacientes SIRA y controles sanos con títulos protectores y no protectores protectores.

TÍTULOS ANTICUERPOS (mg/ml) PACIENTES SIRA y CONTROLES



El paciente SIRA 2 presentó una respuesta no protectora ($<1,32$ ug/ml) para 8 de los 10 serotipos evaluados en este trabajo, quiere decir que su sistema inmune no produce los anticuerpos necesarios para protegerse frente al virus del neumococo, principal agente etiológico de las infecciones bacterianas, número de hospitalizaciones al año y ocupación de los centros de urgencia en niños menores de 5 años, lo cual conlleva a que estos niños sufran infecciones a repetición por este microorganismo configurando un problema de base en la respuesta humoral de su sistema inmunológico como lo es la deficiencia predominante de anticuerpos.

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 le corresponde determinar qué 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.

El presente estudio se encuentra sujeto a ciertas limitaciones asociadas con la revisión documental de historias clínicas debido a que en algunas ocasiones se encontraron datos incompletos.

La principal forma de manifestación clínica que llevó al diagnóstico de deficiencia específica de anticuerpos en esta serie fueron las infecciones recurrentes del tracto respiratorio. Esto es similar a lo reportado por otros autores (30), en que al igual que otras inmunodeficiencias en que se ve afectada la respuesta humoral, las infecciones respiratorias recurrentes son la manifestación clínica predominante. En este estudio la mayoría de los pacientes se presentó como otitis media aguda (30), a diferencia de otras publicaciones en que la neumonía o la sinusitis (31), fueron la forma de presentación más frecuente.

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 anormal. La deficiencia de anticuerpos específicos es la inmunodeficiencia primaria más diagnosticada, este estudio confirma que es la más frecuente debido a que se encontró que el 10% de los pacientes (n=10) presenta una deficiencia de anticuerpos específica, que fue encontrada en pacientes que presentan sospecha de inmunodeficiencias primarias debido a que presentan un cuadro clínico de infección anormal y a repetición por microorganismo de etiología bacteriana que se asocian a deficiencias humorales del sistema inmune. Así mismo, este estudio concuerda con el de Aghamohammadi A, et al.(32) en el cual determinaron que el 11% de los pacientes que presentan síndrome de infección recurrente están afectados con una inmunodeficiencia primaria, en este estudio fue del 10%.

En este estudio se evaluó la respuesta a la vacuna antineumocócica polisacárida, donde se encontró que el 10% de los pacientes (1 paciente SIRA) presentó 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 anticuerpos ⁽⁴⁾ 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 una historia de infecciones en el tracto respiratorio a repetición se encuentra asociado con la deficiencia de anticuerpos específicos debido a que en estos pacientes se ha encontrado disminución de los títulos protectores de anticuerpos.⁽³¹⁾

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 niños, esto 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 crónica con un 40%, demostrado en estudios que esta patología puede ser una característica en común de pacientes que presentan deficiencia de específica de anticuerpos. Este hallazgo clínico de antecedentes de infecciones a repetición, siendo la más frecuente la otitis media crónica se encuentra relacionado con la concentración de anticuerpos como lo demuestran diferentes estudios donde se hace evidente esta correlación.⁽³⁰⁾

El manejo consiste en la administración de la vacuna neumocócica conjugada con base en estudios que demostraron que esa vacuna es capaz de inducir una respuesta IgG en el 80 a 90% de los niños con infecciones recurrentes que no responden a la vacuna polisacárida. ⁽³⁾

En casos severos de SAD se puede plantear el uso de inmunoglobulina intravenosa (IGEV) en dosis de reemplazo. Sin embargo, existe la preocupación de que eventualmente el uso de IGEV pudiese interferir en el desarrollo de la respuesta del sistema inmune. Contrario a esto hay una publicación que plantea que el uso de IGEV podría tener un efecto inmunomodulador *in vitro* en la producción de anticuerpos IgG y citocinas asociado a un mecanismo regulador del balance Th1/Th2, apoyado también por las observaciones hechas por ese mismo grupo de que en niños tratados con IGEV por un período de hasta 2 años, al suspender la terapia, la respuesta de anticuerpos mejoraba ya sea de forma espontánea o tras la administración de la vacuna 23 valente. ⁽³³⁾

En resumen, la DPA es una IDP frecuente que se manifiesta como infecciones respiratorias recurrentes y, en algunos casos, como infecciones severas. Para el estudio se realiza una cuantificación de Ig y una medición de anticuerpos

específicos antineumocócicos tras la administración de la vacuna 23 valente. La mayoría de los pacientes responde a la administración de la vacuna conjugada, siendo una alternativa terapéutica altamente costo-efectiva.

11. CONCLUSIONES

En niños menores de 5 años con infecciones respiratorias recurrentes es preciso investigar una IDP como la DPA.

El 10% de los pacientes que son estudiados por SIRA presentan una disminución de los anticuerpos específicos contra neumococo, siendo estos, títulos no protectores.

La principal forma de manifestación clínica en los pacientes con infecciones recurrentes es la otitis media crónica.

La vacuna neumocócica conjugada es capaz de inducir una respuesta IgG en el 90% de los niños con infecciones recurrentes.

12. RECOMENDACIONES

Aumentar el tamaño de la muestra para así lograr una mayor correlación entre las características clínicas e inmunológicas, teniendo en cuenta los niveles de IgG específica anti-neumococo.

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 BIBLIOGRÁFICAS

1. Epstein MM, Gruskay F. Selective deficiency in pneumococcal antibody response in children with recurrent infections. *Ann Allergy Asthma Immunol* [Internet]. 1995 Aug [cited 2018 Dec 4];75(2):125–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7648376>
2. Hidalgo H, Moore C, Leiva LE, Sorensen RU. Preimmunization and postimmunization pneumococcal antibody titers in children with recurrent infections. *Ann Allergy, Asthma Immunol* [Internet]. 1996 Apr [cited 2018 Dec 6];76(4):341–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8612116>
3. Sorensen RU, Leiva LE, Giangrosso PA, Butler B, Javier FC, Sacerdote DM, et al. Response to a heptavalent conjugate *Streptococcus pneumoniae* vaccine in children with recurrent infections who are unresponsive to the polysaccharide vaccine. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 1998 Aug [cited 2018 Dec 6];17(8):685–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9726341>
4. Boyle RJ, Le C, Balloch A, Tang ML-K. The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2006 Dec [cited 2018 Dec 6];146(3):486–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17100769>
5. Sherkat R, Shoaie P, Parvaneh N, Babak A, Kas-Saian N. Selective Antibody Deficiency and its Relation to the IgG2 and IgG3 Subclass Titers in Recurrent Respiratory Infections Selective Antibody Deficiency and its Relation to the IgG2 and IgG3 Subclass Titers in Recurrent Respiratory Infections. *Iran J Immunol* [Internet]. 2013 [cited 2018 Dec 6];10(1):55–60. Available from: www.iji.ir
6. Quezada A, Norambuena X, Inostroza J, Rodríguez J. Specific antibody deficiency with normal immunoglobulin concentration in children with recurrent respiratory infections. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2015;43(3):292–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2014.07.009>
7. Quezada A, Maggi L, Norambuena X, Inostroza J, Quevedo F. Response to pneumococcal polysaccharide vaccine in children with asthma, and children with recurrent respiratory infections, and healthy children. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2016 Jul [cited 2018 Dec 6];44(4):376–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27255476>
8. Fernández F, Campillay R, Palma V, Norambuena X, Quezada A, Inostroza J. Specific antibody deficiency: Primary immunodeficiency associated to respiratory allergy Deficiencia de anticuerpos específicos: inmunodeficiencia primaria asociada a alergia respiratoria. [cited 2018 Dec 6]; Available from: https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v88n2/en_art09.pdf

9. DOLLY VANESSA ROJAS MEJÍA, ORFA YANETH MOTTA QUIMBAYA, EDNA JULIETH BOBADILLA QUESADA. Comportamiento De Las Inmunodeficiencias Primarias En Los Niños Menores De 15 Años. Consulta De Infección Recurrente. Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo. Neiva. Enero De 2004 - Enero De 2007. 2007;88. Available from: <https://contenidos.usco.edu.co/images/documentos/grados/T.G.Medicina/259.T.G-Dolly-Vanessa-Rojas-Mejia,-Edna-Julieth-Bobadilla-Quesada,-Orfa-Yaneth-Motta-Quimbaya-2007.pdf>
10. Grüber C, Keil T, Kulig M, Roll S, Wahn U, Wahn V. History of respiratory infections in the first 12 yr among children from a birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol* [Internet]. 2008 Sep 1 [cited 2018 Dec 7];19(6):505–12. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1399-3038.2007.00688.x>
11. Holt PG, Jones CA. The development of the immune system during pregnancy and early life. *Allergy* [Internet]. 2000 Aug 1 [cited 2018 Dec 7];55(8):688–97. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1398-9995.2000.00118.x>
12. Yerkovich ST, Wikström ME, Suriyaarachchi D, Prescott SL, Upham JW, Holt PG. Postnatal Development of Monocyte Cytokine Responses to Bacterial Lipopolysaccharide. *Pediatr Res* [Internet]. 2007 Nov 1 [cited 2018 Dec 7];62(5):547–52. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1203/PDR.0b013e3181568105>
13. Slatter MA, Gennery AR. Clinical Immunology Review Series: An approach to the patient with recurrent infections in childhood. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2008 Mar 29 [cited 2018 Dec 7];152(3):389–96. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2249.2008.03641.x>
14. Stiehm ER. The Four Most Common Pediatric Immunodeficiencies. *J Immunotoxicol* [Internet]. 2008 Jan 9 [cited 2018 Dec 7];5(2):227–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18569394>
15. Gathmann B, Grimbacher B, Beauté J, Dudoit Y, Mahlaoui N, Fischer A, et al. The European internet-based patient and research database for primary immunodeficiencies: results 2006-2008. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2009 Sep [cited 2019 Feb 10];157:3–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19630863>
16. REZAEI N, AGHAMOHAMMADI A, MOIN M, POURPAK Z, MOVAHEDI M, GHARAGOZLOU M, et al. Frequency and Clinical Manifestations of Patients with Primary Immunodeficiency Disorders in Iran: Update from the Iranian Primary Immunodeficiency Registry. *J Clin Immunol* [Internet]. 2006 Nov 15 [cited 2019 Feb 10];26(6):519–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17024564>

17. Kirkpatrick P, Riminton S. Primary Immunodeficiency Diseases in Australia and New Zealand. *J Clin Immunol* [Internet]. 2007 Aug 23 [cited 2019 Feb 10];27(5):517–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17588141>
18. Montoya CJ, Henao J, Salgado H, Olivares MM, López JA, Rugeles C, et al. Diagnóstico fenotípico de las inmunodeficiencias primarias en Antioquia, Colombia, 1994-2002. *Biomédica* [Internet]. 2002 Dec 1 [cited 2019 Feb 10];22(4):510. Available from: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1177>
19. Shields AM, Patel SY. The primary immunodeficiency disorders. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2017 Oct [cited 2018 Dec 7];45(10):597–604. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303917301937>
20. Raje N, Dinakar C. Overview of Immunodeficiency Disorders. [cited 2018 Dec 7]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600970/pdf/nihms-712517.pdf>
21. Perez E, Bonilla FA, Orange JS, Ballow M. Specific Antibody Deficiency: Controversies in Diagnosis and Management. *Front Immunol* [Internet]. 2017 May 22 [cited 2018 Dec 7];8. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2017.00586/full>
22. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol*. 2018;
23. Stupka J, Mortensen E, Anzueto A, Restrepo MI. Community-acquired pneumonia in elderly patients. *NIH Public Access*. 2010;5(6):763–74.
24. Krone CL, Biesbroek G, Trzciński K, Sanders EAM, Bogaert D. Respiratory microbiota dynamics following *Streptococcus pneumoniae* acquisition in young and elderly mice. *Infect Immun*. 2014;82(4):1725–31.
25. Zhou JY, Isaacson-Schmid M, Utterson EC, Todd EM, McFarland M, Sivapalan J, et al. Prevalence of nasopharyngeal pneumococcal colonization in children and antimicrobial susceptibility profiles of carriage isolates. *Int J Infect Dis*. 2015;39:50–2.
26. Singh A, Dutta AK. Pneumococcal Vaccines – How Many Serotypes are Enough? *Indian J Pediatr*. 2018;85(1):47–52.
27. Song JY, Nahm MH, Moseley MA. Clinical implications of pneumococcal serotypes: Invasive disease potential, clinical presentations, and antibiotic resistance. *J Korean Med Sci*. 2013;28(1):4–15.

28. Esposito S, Principi N. Safety and tolerability of pneumococcal vaccines in children. *Expert Opin Drug Saf* [Internet]. 2016 Jun 2 [cited 2018 Dec 7];15(6):777–85. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14740338.2016.1160056>
29. (PDF) The Approach to Children with Recurrent Infections [Internet]. [cited 2018 Dec 7]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/228115943_The_Approach_to_Children_with_Recurrent_Infections
30. Ruuskanen O, Nurkka A, Helminen M, Viljanen MK, Käyhty H, Kainulainen L. Specific antibody deficiency in children with recurrent respiratory infections: a controlled study with follow-up. 2012;
31. Aghamohammadi A, Moin M, Karimi A, Naraghi M, Zandieh F, Isaeian A, et al. Immunologic evaluation of patients with recurrent ear, nose, and throat infections. *Am J Otolaryngol - Head Neck Med Surg*. 2008 Nov;29(6):385–92.
32. Aghamohammadi A, Abolhassani H, Mohammadinejad P, Rezaei N. The Approach to Children with Recurrent Infections. Vol. 11, *Iranian journal of allergy, asthma, and immunology*. 2012. 89–109 p.
33. Leiva LE, Monjure H, Sorensen RU. Modulatory Role of Intravenous Gammaglobulin (IgIV) on the in vitro Antibody Response to a Pneumococcal Polysaccharide Antigen. *J Clin Immunol*. 2015 Mar 7;35(2):206–12.

ANEXOS

Anexo A. Aprobación comité de ética médica.



Universidad Surcolombiana

- USCO -

NIT 891.180.084-2

**FACULTAD DE SALUD
COMITÉ DE ETICA EN INVESTIGACIÓN**

NCS-012

Neiva 8 de Febrero de 2012

Doctor

CARLOS F. NARVÁEZ ROJAS

Jefe de Inmunología

Programa de Medicina

Ciudad

Reciba un cordial saludo,

El comité de Ética en Investigación de la Facultad de Salud en sesión del 07 de Febrero de 2012 y según consta en el acta No. 02 de la fecha, se permite informar que el proyecto **"RESPUESTA DE ANTICUERPOS TOTALES Y ESPECÍFICOS DE NEUMOCOCO EN NIÑOS CON SÍNDROME DE INFECCIÓN RECURRENTE DEL SUR COLOMBIANO"** . Fue aprobado.

Con el fin de hacer seguimiento a cada protocolo aprobado, el comité solicita a los investigadores informen acerca de:

- Cualquier anomalía acontecimiento adverso grave o inesperado durante el desarrollo de la investigación, en un plazo máximo de 15 días.
- Cualquier otra contingencia que ponga en riesgo a los pacientes a raíz de la investigación, modificaciones del protocolo, suspensión del ensayo y sus causas, en un plazo de 15 días.
- Informe final de la investigación en un plazo máximo de un mes después de terminada la investigación.

Atentamente,

NANCY CERÓN SOLARTE

Secretaria

Electora Olimpia R.

Avenida Pastrana Borrero - Carrera 1a. A.A. 385 y 974 - PBX 8754753 - Fax 8758890 - 8759124 - 8752374 - 8752436

Carrera 5 No. 23 - 40 - Edificio de Postgrados - PBX 8753686

www.usco.edu.co

NEIVA - HUILA

Anexo B. Consentimiento informado.

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

“Respuesta de anticuerpos anti-neumococo pre y post vacunación en niños que asisten a consulta por síndrome de infección recurrente”

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 GARANTIZAR Y NO LE GARANTIZAMOS O PROMETEMOS QUE USTED RECIBIRA 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 Sur colombiana. 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 ayudaran 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 Sur colombiana en Neiva, calle9, 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 IgG específica de neumococo en niños con síndrome de infección recurrente anormal en niños del sur colombiano. 20 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 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 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 8718310ext 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:

Sí ___ No ___

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

Sí ___ 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:

Sí ___ No ___

AUTORIZACION PARA LA TOMA DE MUESTRAS E INCLUSION VOLUNTARIA
EN EL ESTUDIO

“Respuesta de anticuerpos anti-neumococo pre y post vacunación en niños que asisten a consulta por síndrome de infección recurrente”

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.

Investigador
Cc.

Anexo C. Criterios de anormalidad evaluados que definen SIRA

Criterios de anormalidad definidos por el *programa de vigilancia del Síndrome de Infección Recurrente*

Debe cumplir al menos 3 criterios

1. Tres o más episodios infecciosos moderados a severos, de etiología bacteriana o micótica, ocurridos en los últimos doce meses.
2. Antecedente de dos hospitalizaciones por infección moderada o severa en los últimos doce meses.
3. Prolongación inusual de los episodios infecciosos, de acuerdo con lo establecido en la literatura especializada para las diferentes enfermedades infecciosas.
4. Respuesta inadecuada al tratamiento antiféccioso empleado, de acuerdo con el diagnóstico clínico (o confirmado por el medio paraclínico apropiado, en las localidades que cuenten con este recurso).
5. Identificación de un germen oportunista o inusual en la etiología de una enfermedad infecciosa.
6. En los lactantes, presencia de alteraciones en el desarrollo pondoestatural o psiconeurológico asociadas a la infección recurrente.
7. Aparición, durante la evolución de la infección recurrente, de secuelas y/o complicaciones graves.
8. Compromiso notable del sistema hematopoyético (trastornos hematológicos inusuales, severos y/o persistentes en el hemoleucograma, de acuerdo con la edad y la enfermedad del paciente).
9. Enfermedades autoinmunes asociadas a la infección recurrente anormal.

10. Presencia de complicaciones secundarias a la aplicación de vacunas vivas (diseminación, neumonía, parálisis, etc.).

11. Enfermedad de injerto contra hospedero perinatal o después de una transfusión sanguínea.

12. Antecedentes familiares de infección recurrente anormal, neoplasia hematológica, autoinmunidad o muerte en el primer año de vida por infección severa o por causa desconocida.

Anexo D. Presupuesto.

RUBROS	FINANCIACIÓN		Total (\$)
	Fuente 1	Fuente 2	
Personal	Universidad Surcolombiana \$22.275.000		22.275.000
Equipos	Universidad Surcolombiana \$11.000.000	Recursos propios \$1.000.000	12.000.000
Software	Universidad Surcolombiana \$450.000	Recursos propios \$50.000	500.000
Materiales	Universidad Surcolombiana \$150.000	Recursos propios \$48.800	198.800
Salidas a campo	Universidad Surcolombiana \$300.000	Recursos propios \$276.000	576.000
Material bibliográfico	Universidad Surcolombiana \$50.000	Recursos propios \$30.000	80.000
Servicios técnicos	Universidad Surcolombiana \$30.000	Recursos propios \$30.000	60.000
Administración	Universidad Surcolombiana \$25.000	Recursos propios \$25.000	50.000
Total	\$28.365.7000		28.365.700

Anexo E. Cronograma de actividades.

Actividad	1-dic-2018	1-ene-2019	1-feb-2019	1-mar-2019	1-abr-2019	1-may-2019	1-jun-2020	1-jul-2020	1-ago-19	1-sep-2019	1-oct-2019	1-nov-2019	1-dic-2019
Revisión bibliográfica													
Realización de anteproyecto													
Prueba piloto													
Entrenamiento en el laboratorio													
Realización de pruebas piloto de experimentos en el laboratorio													
Experimentos ELISA en el laboratorio													
Lectura y análisis de resultados													
Presentación final del proyecto													
Entrega del documento final del proyecto													

 UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA	LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA	
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS	Página:69 Versión:01

Anexo F. Protocolo IGG ANTI-PNEUMOCOCO

ANTICUERPOS IgG ANTI-PNEUMOCOCO

INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus pneumoniae*, es el principal microorganismo causante de infecciones respiratorias agudas, que se estima resultan en más de un millón de muertes pediátricas cada año (1). La inmunización con vacunas polivalentes polisacáridos anti-neumocóccicas reduce la incidencia de infecciones respiratorias por *S. pneumoniae* en niños y adultos. Sin embargo, la vacuna 23- Valente anti-neumocóccica no induce respuesta protectora de anticuerpos en niños menores de 2 años (1). La medición de anticuerpos IgM e IgG, inducidos por la vacuna después de los 2 años de edad es un buen método para evaluar la efectividad de la vacuna (2).

Una modificación del ELISA descrito por Koskela en 1987 (3) es usada para medir los títulos de IgG específicos anti-neumocóccicos. Una cantidad fija de antígeno es fijada a la fase sólida. Las muestras y el estándar son previamente adsorbidos con el Polisacárido C del Neumococo (CPS), común para todas las cepas de *S. pneumoniae* (3), y posteriormente adicionados. Los anticuerpos que no se unen son removidos y un anticuerpo secundario (Anti-human IgG Fc monoclonal obtenido de cabra) conjugado con una enzima (Peroxidasa de rábano picante, del inglés *Horseradish peroxidase –HRP-*) es adicionado a esta unión. Después de una serie de lavados, el complejo antígeno-anticuerpo- enzima es detectado mediante la adición del sustrato. La densidad óptica es medida en cada pozo e interpolada en una curva de calibración construida con el estándar al que se le ha asignado un valor nominal en ug/ml de Anticuerpos.

TOMA DE MUESTRA. Se realiza por punción venosa con técnica venojet en tubo sin anticoagulante para obtener suero.

Se deja en reposo en posición vertical hasta que retraiga el coágulo; para llevar a centrifugar durante 10 minutos a 2500rpm.

 UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA	LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA	
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS	Página:70 Versión:01

Luego en un tubo eppendorff marcado anteriormente, se separa el suero que se ha separado del coágulo. Esta muestra se puede almacenar a -70°C si no se procesa inmediatamente.

REACTIVOS

Agua estéril Cloruro de Sodio Cloruro de Potasio

Fosfato Monobásico de Potasio Fosfato Dibásico de Sodio Ácido Cítrico

Tween 20

Polisacáridos del Pneumococo -ATCC, 12301 Parklawn Drive, Rockville, MD 20852. FAX # 301-231-5826.

Tipo 1 (Danish 1), código # 161-X

Tipo 3 (Danish 3), código # 169-X Tipo 4 (Danish 4), código # 173-X Tipo 5 (Danish 5), código # 177-X Tipo 26 (Danish 6B), código # 225-X Tipo 68 (Danish 9V), código # 253-X Tipo 14 (Danish 14), código # 197-X Tipo 56 (Danish 18C), código # 245-X Tipo 19 (Danish 19F), código # 205-X Tipo 22 (Danish 22F), código # 216-X Tipo 23 (Danish 23F), código # 217-X

Polisacárido tipo 22 (adsorción)

Polisacárido Capsular (stock 10mg/ml) – Item # 252130. Statens Serum Institut, Copenhagen S., Denmark. FAX # 45-3268 3167.

Suero Estándar 89SF. Center for Biological Evaluation and Review, Food and Drug Administration, Rockville, MD, 20852. FAX # 301-402-2771.

Conjugado (Anti-human IgG Fc – Peroxidasa monoclonal obtenido de cabra).

SIGMA

Tetrametil-Bencidina Peróxido de Hidrógeno DMSO

Ácido Sulfúrico

EQUIPOS

Placas Maxisorp de 96 pozos Pipeta Multicanal (20-200µl) Pipeta Multicanal (5-50µl)

Pipeta automática (2-20µl, 20-200µl, 200-1000µl) Puntas desechables

Tubos de polipropileno (15ml, 50ml) Tubos plásticos 12x75mm

Pipetas volumétricas de 10ml Papel absorbente

Incubadora o baño Serológico pH metro

Lavador Espectrofotómetro Impresora

 UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA	LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA	
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS	Página: 71 Versión: 01

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Buffer Fosfato (PBS 0.01M Ph: 7.0-7.4) Stock 10X

NaCl	80g/l
KCl	1.60g/l
KH ₂ PO ₄	2.91g/l

Disolver en aproximadamente 800ml de agua destilada estéril. Completar el volumen total a 1000ml con agua destilada estéril.

Para preparar Buffer 1X: Diluir 100ml del PBS 10X en 1000ml de agua destilada estéril. Verificar pH y almacenar a 5°C.

Antígeno del Polisacárido Capsular: Reconstituir con agua estéril, para que quede a una concentración de 10mg/ml. Alicuotar y almacenar a -70°C.

Polisacárido C: Reconstituir con agua estéril a una concentración final de 10mg/ml. Alicuotar y almacenar a -20°C.

Suero de Referencia 89SF: Almacenar liofilizado a 4°C. Reconstituir con 3ml de agua destilada, alicuotar y almacenar a -20°C.

Solución de lavado: PBS 0.01m; 0.05%; Tween 20.

PBS 10X stock	100ml/l
Tween 20	0.5ml/l

Diluir 100ml PBS 10X stock con 800ml de agua destilada estéril. Adicionar 0.5ml de Tween 20 y llevar a un volumen de 1000ml con agua destilada estéril. Chequear el pH (7.0-7.4). Almacenar a 4°C.

Conjugado: Se utiliza Peroxidasa de Sigma, se diluye 1/2000 (25ul conjugado concentrado en 50ml de Buffer PBS/Tween, volumen completo para agregar 50ul a cada uno de los pozos en las 10 placas que se tienen en cada montaje.

 UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA	LABORATORIO DE INMUNOLOGÍA	
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS	Página:72 Versión:01

Sustrato: Tetrametil-Bencidina en tabletas de 1mg (Sigma). Se prepara Buffer

Citrato-Fosfato y se utiliza Dimetil Sulfoxido para diluir cada tableta (1 tableta en 1ml de DMSO). Luego se adiciona 9ml del Buffer mencionado y al momento de agregarlo a los pozos se agrega Peróxido de Hidrógeno (10 μ l por cada 10ml de la solución).

Buffer Citrato-Fosfato: (pH:5.0)

5.24 g Ácido Cítrico 0.05M

7.1 g Sodio Fosfato Bibásico 0.1M Disolver en 500ml de agua destilada.

Para preparar sustrato suficiente para 10 placas se disuelven 10 tabletas en 10ml de DMSO. Luego de disueltas se agrega 90ml de Buffer Citrato-Fosfato preparado previamente y al momento de adicionar el sustrato a los pozos, se agregan los 100 μ l de Peróxido de Hidrógeno.

Solución Stop: Ácido Sulfúrico 2N. Adicionar 2.7ml de ácido sulfúrico concentrado (36.8 N) a 47.3ml de agua destilada. Almacenar a temperatura

PROCEDIMIENTO:

DIA 1.

Marcar un tubo para cada uno de los Polisacáridos. Diluir en PBS 1X estéril pH:7.0 (no Tween). Dilución 1:1000.

Tabla 1. Información sobre los Polisacáridos neumocócicos para su adquisición y preparación.

Polisacárido	Código ATCC	Vial (mg)	Concentración Stock (mg/ml)	Volúmen Pn (µl)	Volumen PBS 1X (ml)	Concentración de trabajo (ug/ml)
Pn 1	161-X	10	10	10	10	10
Pn 3	169-X	10	10	10	10	10
Pn 4	173-X	10	10	10	10	10
Pn 5	177-X	10	10	10	10	10
Pn 6B	225-X	10	10	10	10	10
Pn 9V	253-X	10	10	10	10	10
Pn 14	197-X	10	10	1	10	1
Pn 18C	245-X	10	10	1	10	1
Pn 19F	205-X	10	10	10	10	10
Pn 22F	216-X	10	10	0.5	1	5
Pn 23F	217-X	10	10	10	10	10

Luego, pipetear 100µl del antígeno diluído de cada uno de los serotipos a cada una de las placas de 96 pozos. Cubrir e incubar toda la noche a 4°C.



Por otro lado, se realiza la adsorción del estándar y muestras con CPS: Dilución de muestras 1/10 con PBS/Tween (25µl muestra + 225µl de PBS/Tween 20); adicionar 1.25µl CPS stock (concentración de stock 10mg/ml, concentración de trabajo 5ug/ml) a cada uno de los tubos. Adicionar 1.25µl de Polisacárido 22F (concentración de stock 10mg/ml, concentración de trabajo 5ug/ml) también para hacer adsorción. Mezclar en vórtex e incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Luego se prepara la dilución final de estándar y muestras de acuerdo a la siguiente tabla y se almacenan a 4°C hasta el próximo día.

Tabla 2. Preparación de las muestras de los pacientes y el control.

Tipo de muestra	Dilución final (Serotipo)	Vol. Muestra (µl) de 1/10	PBS/Tween (µl)	Vol. total (µl)
89-SF Std	1:200	110	2090	2200
Niños Pre	1:10	---	---	---
Niños Post	1:200	110	2090	2200
Madres Pre	1:200	110	2090	2200
Madres Post	1:200	110	2090	2200

DIA 2.

Las placas incubadas el día anterior se lavan 3 veces con PBS/Tween 20.

El estándar y el blanco se montan por duplicado. Se realizan diluciones seriadas en los pozos: adicionar 50µl de PBS/Tween a los pozos de blanco y en donde van a ir las diluciones, excepto en el primer pozo que es donde se agrega la muestra con la dilución inicial, es decir, la dilución en que quedó el día anterior.

Adicionar 100µl del estándar, control y muestras en el respectivo primer pozo. Realizar 3 diluciones seriadas: Se toman 50µl del primer pozo y se agrega al segundo pozo donde se ha agregado previamente 50µl del diluyente (PBS/Tween), se mezcla 4 veces aspirando y llenando suavemente la punta. De esta manera se continúa para realizar las otras diluciones hasta llegar a la última y descartar los 50µl del último pozo. Se dejan 2 pozos para blanco (no llevan muestra).



Cubrir las placas e incubar 2 horas a temperatura ambiente.
Después de la incubación, se realizan los 3 lavados como en el primer paso.
Preparación del anticuerpo conjugado (dilución 1/2000):

Tabla 3. Preparación del anticuerpo conjugado.

Número de Placas	HRP Stock de Conjugado (μ l)	PBS/Tween (ml)
1	3	6
2	6	12
3	9	18
4	12	24
5	15	30
10	25	50
20	50	100

ELABORADO POR: ANA MARIA SILVA CHÁVARRO. Interna Inmunología FECHA: ENERO 2010	REVISADO POR: CARLOS F NARVAEZ. MD. PhD DIANA CASTAÑEDA UVAJOA. MSc FECHA: OCTUBRE DE 2011	APROBADO POR: FECHA:
--	---	----------------------

Adicionar 50 μ l de conjugado diluído a cada pozo e incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.

Lavar las placas 3 veces.

Adicionar 100 μ l de TMB y detener la reacción adicionando 50 μ l de solución stop (Ácido Sulfúrico 2N) cuando la última dilución que está reaccionando, represente el doble del blanco

Leer la absorbancia con filtro de 450nm.



Tabla 4. Concentración de Anticuerpos IgG Anti-neumococo con control 89-SF

TIPO	(ug/ml)
1	6.3
3	2.1
4	4.1
5	5.8
6B	16.9
9V	6.9
14	27.8
18C	4.5
19F	13.0
23F	8.1

REPORTE DE RESULTADOS DEL TEST:

Para realizar el reporte de resultados, se debe realizar una gráfica de la DO para el suero de referencia SF-89 vs el logaritmo en base 2 de la concentración ($\mu\text{g/ml}$) que aparece en la Tabla 5. A partir de esta se obtiene la ecuación de la recta ($Y = mX + b$), en la cual despejando X y reemplazando Y por la DO de la muestra se obtiene la concentración.

La DO de la muestra corresponde a la primera dilución en la cual inicia la porción lineal.

Se genera un reporte de resultados para cada paciente. Los resultados que son menores que el límite inferior del rango de medición (Tabla 5) se reportan como valores más bajos que el límite inferior.

La densidad óptica en los pozos Blanco debe ser menor de 0.1 OD, generalmente 0.05 OD.



La pendiente de la porción lineal de la curva estándar (0.1-2.0 DO) debe acercarse a 1.0 (0.9-1.1) cuando se grafica el log de DO contra el log de la concentración estándar.

Para evaluar la Sensibilidad se debe calcular el límite más bajo de detección del test y confirmar que el límite de detección esté en el rango establecido.

Tabla 5. Las concentraciones más bajas de IgG Anti-neumococo detectadas por esta prueba fueron

SEROTIPO	IgG (ug/ml)
1	0.04
3	0.07
4	0.04
5	0.04
6B	0.08
9V	0.06
14	0.10
18C	0.05
19F	0.08
23F	0.08

VALORES DE REFERENCIA:

Pre-inmunización: >0.6

Post-inmunización: >1.3

Esos rangos de referencia están sujetos a modificación o ajustes en cuanto se publiquen nuevos datos.



REFERENCIAS:

1. Siber GR. Pneumococcal Disease: Prospects for a new Generation of Vaccines. *Science* 1994;265:1385-1387.
2. Siber GR, Priehs C, Madore DV. Standarization of antibody assays for measuring the response to pneumococcal infection and immunization. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:S84-S91.
3. Koskela M. Serum antibodies to pneumococcal C polysaccharide in children: response to acute pneumococcal otitis media or to vaccination. *Pediatr Infect*
4. Robbins JB, Austrian R, Lee C-J, Rastogi SC, Schiffman G, Henrichsen J, Makela PH, Broome CV, Facklam RR, Tiesjema RH, Parke Jr. JC. Considerations for formulating the second-generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on the cross-reactive types within groups. *J Infect Dis* 1983; 148:1136-1159.
5. WHO. Training manual for Enzyme linked immunosorbent assay for the quantitation of *Streptococcus pneumoniae* serotype specific IgG (Pn PS ELISA). 1-28.