



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
EN CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**DETECCIÓN DE DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS
MEDIANTE LA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA ANTI-
NEUMOCOCO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIONES
RECURRENTES. ESTUDIO PRELIMINAR**

DIANA LETICIA SANABRIA MARTÍNEZ

Tesis presentada para obtener el Título de Magíster en Ciencias Biomédicas

San Lorenzo – Paraguay

Junio, 2021



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
EN CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**DETECCIÓN DE DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS
MEDIANTE LA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA ANTI-
NEUMOCOCO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIONES
RECURRENTES. ESTUDIO PRELIMINAR**

DIANA LETICIA SANABRIA MARTÍNEZ

Tutor/a: DRA. BIOQ. VIVIAN GIMÉNEZ BAREIRO, MSc.

Co-tutor/a: PROF. DRA. CELIA MARTÍNEZ DE CUÉLLAR, MSc.

Tesis presentada para obtener el Título de Magíster en Ciencias Biomédicas

San Lorenzo – Paraguay

Junio, 2021

Sanabria Martínez, Diana Leticia

Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. Estudio preliminar/Diana Leticia Sanabria Martínez; Vivian Giménez Bareiro; Celia Martínez de Cuéllar.--San Lorenzo: UNA, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Químicas, 2021.

xv, 99 p; il

Tesis (Magíster en Ciencias Biomédicas) – IICS, FCQ, 2021

1. Deficiencias de Anticuerpos Primarios 2. Vacunas Neumocócicas
3. Infecciones 4. Niños 5. Diagnóstico. I. Título

CDD (ed. 18^a) 616.079
San51d



“La Maestría en Ciencias Biomédicas, POSG17-59, es cofinanciada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONACYT, con recursos del FEEI”.

Institución ejecutora del programa: Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud - Universidad Nacional de Asunción.

“La presente tesis ha sido elaborada con el apoyo del CONACYT. El contenido de la misma es responsabilidad exclusiva de los autores y en ningún caso se debe considerar que refleja la opinión del CONACYT”.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



LA **DRA. BIOQ. VIVIAN GIMÉNEZ BAREIRO, MSc.**, DOCENTE INVESTIGADOR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN.

INFORMA: Que el presente documento, titulado “Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. Estudio preliminar”, constituye la Memoria del Trabajo de Tesis que presenta la estudiante **Diana Leticia Sanabria Martínez** para optar al Título de Magíster en Ciencias Biomédicas, y ha sido realizado bajo su dirección.

Considerando que la tesis reúne los requisitos necesarios para ser presentada ante el tribunal constituido a tal efecto y para que conste, se expide y firma el presente informe en la ciudad de San Lorenzo, a los 17 días del mes de mayo de 2021.

Tutor(a): Dra. Bioq. Vivian Giménez Bareiro, MSc.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



LA **PROF. DRA. CELIA MARTÍNEZ DE CUÉLLAR, MSc.**, DOCENTE DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN.

INFORMA: Que el presente documento, titulado “Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. Estudio preliminar”, constituye la Memoria del Trabajo de Tesis que presenta la estudiante **Diana Leticia Sanabria Martínez** para optar al Título de Magíster en Ciencias Biomédicas, y ha sido realizado bajo su dirección.

Considerando que la tesis reúne los requisitos necesarios para ser presentada ante el tribunal constituido a tal efecto y para que conste, se expide y firma el presente informe en la ciudad de San Lorenzo, a los 17 días del mes de mayo de 2021.

Co-Tutor(a): Prof. Dra. Celia Martínez de Cuéllar, MSc.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



LA B.C. PAMELA ESTHER MONGELÓS DACUNTE, MSc., COORDINADORA DEL PROGRAMA DE POSTGRADO, DEPENDIENTE DE LA UNIDAD DE DOCENCIA DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN Y DE LA DIRECCIÓN DE POSTGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN.

INFORMA: Que el presente documento, titulado “Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. Estudio preliminar”, constituye la Memoria del Trabajo de Tesis que presenta la estudiante **Diana Leticia Sanabria Martínez** para optar al Título de Magíster en Ciencias Biomédicas bajo la dirección del docente investigador **DRA. BIOQ. VIVIAN GIMÉNEZ BAREIRO, MSc.,** considerando que el trabajo de tesis reúne los requisitos de formato necesarios para ser presentada ante el tribunal constituido a tal efecto y para que conste, se expide y firma el presente informe en San Lorenzo, a los 3 días del mes de junio de 2021.

B.C. Pamela Esther Mongelós Dacunte, MSc.
Coordinadora de la Maestría en Ciencias Biomédicas



UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN
CIENCIAS DE LA SALUD
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.

Estudio preliminar

Trabajo de Tesis para optar el título de Magíster en Ciencias Biomédicas.

Diana Leticia Sanabria Martínez

Aprobado el 11 de junio de 2021

Tribunal examinador:

Prof. Dra. Laura Patricia Mendoza Torres, PhD. IICS–UNA, San Lorenzo, Paraguay.

Prof. Dra. Ana Ilda Ayala Lugo, PhD. IICS–UNA, San Lorenzo, Paraguay.

Dra. Gloria Malvina Páez de Acchiardi, MSc. IICS–UNA, San Lorenzo, Paraguay.

B.C. Nathalia Paola Navarro Trevisan, MSc. IICS–UNA, San Lorenzo, Paraguay.

Dra. Vivian Giménez Bareiro, MSc.

Tutor(a)

Prof. Lic. Laura Joy, MSc.

Directora de Postgrado FCQ

DEDICATORIA

A mis hijos, *Joaquín y Bruno*:

Quizás no puedan comprender el significado de estas palabras y se podrán incluso preguntar, por qué mamá nos dedica su trabajo de investigación?

Sin embargo, podrán entender que todo lo hago por Ustedes, quienes me empujan a levantarme cada mañana, me ayudan a luchar por un futuro mejor para nosotros tres.

Gracias por comprender y aceptar con hidalguía todas mis horas de ausencia para llegar a culminar este proyecto; agradezco a Dios que me bendijo con sus vidas.

Los amo con el alma....

Mamá.-

AGRADECIMIENTOS

Mi sincero agradecimiento a:

Dios, por la fortaleza y la sabiduría para enfrentar este sacrificado camino.

Mis padres y hermanos, por su apoyo incondicional en todo lo que respecta a mi formación profesional.

Mi Tutora y Co-tutora, por la paciencia y el impecable trabajo de orientación para culminar con éxito este proyecto.

Mis compañeros/as del Departamento de Inmunología del IICS, por su importante apoyo para poder dedicarme a tiempo completo en terminar este trabajo.

Simplemente, gracias de corazón....

Diana Sanabria.-

**DETECCIÓN DE DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS
MEDIANTE LA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA ANTI-NEUMOCOCO
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIONES RECURRENTE.
ESTUDIO PRELIMINAR**

Diana Leticia Sanabria Martínez*, Vivian Giménez Bareiro**

*Estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud,
Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción

**Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad
Nacional de Asunción

RESUMEN

Introducción: La deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) cursa con producción deficiente de anticuerpos contra el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), cuyo diagnóstico requiere la cuantificación de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con vacuna neumocócica 23-valente (PPV23). En Paraguay no están disponibles los métodos de laboratorio para detectar SAD y no existen datos de pacientes diagnosticados. **Objetivo:** Detectar la presencia de SAD mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. **Materiales y Métodos:** Fueron incluidos pacientes de 2 a 17 años de edad con infecciones recurrentes y atendidos en consultorios de pediatría de hospitales públicos (periodo 2019-2020). Se midieron los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización con PPV23 por el ensayo de ELISA global, y las inmunoglobulinas séricas IgA, IgG, IgM y subclases de IgG por inmunodifusión radial. **Resultados:** Fueron estudiados 42 pacientes con mediana de edad de 5 años. Se observó predominio de infecciones respiratorias (30/42) y alergias (33/42). Los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo aumentaron significativamente ($p < 0,001$) post-inmunización con PPV23, sin embargo, dos pacientes (4,8%) con respuesta anti-neumococo deficiente fueron definidos como casos de SAD. Se detectaron otras deficiencias de anticuerpos como 4 casos de deficiencia aislada de IgG, 3 deficiencias de IgA y una inmunodeficiencia común variable. Tres pacientes tuvieron niveles disminuidos de subclases de IgG. **Conclusiones:** Se aportaron los primeros datos sobre casos de SAD detectados en Paraguay y se inició el proceso de implementación de la metodología diagnóstica para ofrecerla posteriormente como un servicio a la comunidad.

Palabras claves: Deficiencias de Anticuerpos Primarios, Vacunas Neumocócicas, Infecciones, Niños, Diagnóstico.

DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODY DEFICIENCY BY ASSESSMENT OF ANTI-PNEUMOCOCCAL RESPONSE IN PEDIATRIC PATIENTS WITH RECURRENT INFECTIONS. PRELIMINARY STUDY

Diana Leticia Sanabria Martínez*, Vivian Giménez Bareiro**

*Estudiante de la Maestría en Ciencias Biomédicas, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Asunción

**Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción

ABSTRACT

Introduction: Specific antibody deficiency (SAD) occurs with a deficient production of antibodies against *Streptococcus pneumoniae* (pneumococcus), which diagnosis requires the quantification of anti-pneumococcal antibodies post-immunization with 23-valent pneumococcal vaccine (PPV23). Laboratory methods to detect SAD are not available in Paraguay and there are no data on diagnosed patients. **Aim:** To detect the presence of SAD by assessment of the anti-pneumococcal response in pediatric patients with recurrent infections. **Materials and Methods:** Patients aged between 2 to 17 years with recurrent infections who attended to pediatric services of public hospitals (period 2019-2020) were included. The serum levels of anti-pneumococcal antibodies were measured before and after immunization with PPV23 by the global ELISA assay, and the serum immunoglobulins IgA, IgG, IgM and IgG subclasses were measured by radial immunodiffusion. **Results:** 42 patients with a median age of 5 years were studied. A predominance of respiratory infections (30/42) and allergies (33/42) was observed. Serum levels of anti-pneumococcal antibodies increased significantly ($p < 0.001$) post-immunization with PPV23, however, two patients (4.8%) with an impaired anti-pneumococcal response were defined as cases of SAD. Other antibody deficiencies were found such as 4 cases of isolated IgG deficiency, 3 IgA deficiencies, and one common variable immunodeficiency. Three patients had decreased IgG subclass levels. **Conclusions:** The first data of SAD cases detected in Paraguay are provided in this study; in addition, the process of implementation of the methodology for its diagnosis has begun, in order to offer it later as a service to the community.

Keywords: Primary Antibody Deficiencies, Pneumococcal Vaccines, Infections, Children, Diagnosis.

ÍNDICE

	Página
TÍTULO	1
1. MARCO TEÓRICO	2
1.1 Sistema inmunitario.....	3
1.2 Componentes del sistema inmunitario	4
1.3 Linfocitos B y respuesta de anticuerpos.....	5
1.4 Deficiencias del sistema inmunitario	10
1.5 Deficiencias predominantes de anticuerpos	13
1.6 Deficiencia de anticuerpos específicos.....	15
1.7 Diagnóstico de la deficiencia de anticuerpos específicos	20
1.8 Otras consideraciones sobre la deficiencia de anticuerpos específicos.....	25
1.9 Inmunodeficiencias primarias y deficiencia de anticuerpos específicos en Paraguay	27
2. OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo general	30
2.2 Objetivos específicos.....	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 Diseño.....	32
3.2 Población	32
3.3 Muestreo y reclutamiento	34
3.4 Obtención de muestras y procedimiento de inmunización.....	34
3.5 Evaluación de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo.....	35
3.6 Estudio de los niveles séricos de inmunoglobulinas totales y de las subclases de inmunoglobulina G (IgG).....	36
3.7 Definición de deficiencias de anticuerpos según criterios diagnósticos internacionales	38
3.8 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según edad y estado previo de vacunación neumocócica conjugada (PCV).....	40
3.9 Consideraciones éticas.....	40
3.10 Asuntos estadísticos	41
4. RESULTADOS.....	42
4.1 Caracterización de la población pediátrica con infecciones recurrentes	43
4.2 Evaluación de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo.....	46
4.3 Estudio de inmunoglobulinas séricas totales y de las subclases de IgG.....	50

4.4 Casos identificados de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) y de otras deficiencias de anticuerpos.....	52
4.5 Caracterización de pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio.....	53
4.6 Caracterización de pacientes pediátricos con infecciones recurrentes en cuanto a su estado previo de inmunización con PCV	55
5. DISCUSIÓN	59
5.1 Caracterización de la población pediátrica con infecciones recurrentes.....	60
5.2 Evaluación de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo.....	62
5.3 Estudio de inmunoglobulinas séricas totales y de subclases de IgG.....	66
5.4 Casos identificados de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) y de otras deficiencias de anticuerpos.....	67
5.5 Caracterización clínico-demográfica de pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio.....	71
5.6 Caracterización de pacientes pediátricos con infecciones recurrentes en cuanto a su estado previo de inmunización con PCV	72
5.7 Diagnóstico y manejo terapéutico de los pacientes con respuesta anti-neumococo deficiente.....	73
5.8 Limitaciones del estudio.....	74
6. CONCLUSIONES	76
6.1 Conclusiones y perspectivas del estudio	77
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
8. ANEXOS	89
8.1 Anexo 1	90
8.2 Anexo 2	93
8.3 Anexo 3	96
8.4 Anexo 4	98
8.5 Anexo 5	93

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Diferentes subgrupos de linfocitos B median diferentes tipos de respuestas de anticuerpos.....	9
Figura 2. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según el estado de inmunización con PPV23 (n=42).....	48
Figura 3. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización con PPV23 según grupos etarios (n=42).....	49
Figura 4. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con PPV23 según grupos etarios (n=42).....	50
Figura 5. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según dosis de PCV (n=42).....	57
Figura 6. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según tiempo transcurrido desde la última dosis de PCV (n=34).....	58

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Características demográficas de la población pediátrica con infecciones recurrentes. (n=42).....	43
Tabla 2. Características clínicas de pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. (n=42).....	45
Tabla 3. Respuesta de anticuerpos anti-neumococo en la población pediátrica con infecciones recurrentes. (n=42).....	47
Tabla 4. Niveles séricos de inmunoglobulinas totales en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. (n=42).....	51
Tabla 5. Niveles séricos de subclases de IgG en pacientes pediátricos con respuesta anti-neumococo deficiente y/o con hipogammaglobulinemia. (n=10).....	52
Tabla 6. Características demográficas y fenotipo inmunológico de pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio. (n=10).....	54
Tabla 7. Características clínicas de los pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio. (n=10).....	55

**DETECCIÓN DE DEFICIENCIA DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS
MEDIANTE LA EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA ANTI-NEUMOCOCO
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INFECCIONES RECURRENTE.
ESTUDIO PRELIMINAR**

**DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODY DEFICIENCY BY ASSESSMENT
OF ANTI-PNEUMOCOCCAL RESPONSE IN PEDIATRIC PATIENTS
WITH RECURRENT INFECTIONS. PRELIMINARY STUDY**

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Sistema inmunitario

1.1.1 Generalidades

El término inmunidad deriva de la palabra latina *immunitas*, que se refiere a la protección frente a procesos legales de la cual disfrutaban los senadores romanos mientras permanecían en el ejercicio de su cargo. Históricamente, el término inmunidad ha hecho referencia a la protección frente a la enfermedad, específicamente, frente a las enfermedades infecciosas. Las células y las moléculas responsables de la inmunidad constituyen el sistema inmunitario, y su respuesta conjunta y coordinada frente a la introducción de sustancias extrañas, es la respuesta inmunitaria (1).

El sistema inmunitario es una red compleja de células y órganos que cooperan entre sí para proteger al individuo de los microorganismos infecciosos y de las amenazas propias del organismo como el cáncer. Este complejo sistema está especializado en identificar el peligro, contenerlo y finalmente eliminarlo, y lo componen células altamente especializadas, proteínas, tejidos y órganos (2). Además, sustancias extrañas no infecciosas pueden desencadenar respuestas inmunitarias, y en algunas situaciones, los mecanismos que normalmente protegen a los individuos de la infección, también son capaces de provocar lesiones tisulares y enfermedad (3).

1.1.2 Sistema inmunitario innato y adaptativo

Al sistema inmunitario se lo divide en dos componentes, la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa (o adquirida), que colaboran para proteger al organismo. La inmunidad innata incluye mecanismos moleculares y celulares que se activan antes de una infección y cuyo fin es prevenirla o eliminarla. Esta primera línea de defensa altamente eficaz impide la mayoría de las infecciones desde el principio, o las anula en las horas que siguen a su contacto con el sistema inmunitario innato. Los elementos de reconocimiento de este sistema distinguen de manera precisa entre lo propio y lo extraño, pero no están especializados para distinguir diferencias pequeñas en las moléculas extrañas (3).

Una segunda forma de inmunidad, conocida como inmunidad adaptativa, se establece en respuesta a las infecciones y se adapta para reconocer, eliminar y más tarde recordar al patógeno invasor. La inmunidad adaptativa se desarrolla a partir de la innata y comienza pocos días después de la infección inicial. Constituye una segunda línea de defensa amplia que elimina los patógenos que evaden las reacciones innatas o persisten a pesar de éstas. Una importante consecuencia de la reacción inmunitaria adaptativa es la memoria; si el mismo agente patógeno u otro estrechamente relacionado infectan al organismo en una segunda ocasión, las células de memoria aportan los medios para que el sistema inmunitario adaptativo desencadene un ataque rápido y a menudo muy eficaz contra el invasor (1).

1.2 Componentes del sistema inmunitario

1.2.1 Componentes de la inmunidad innata

La inmunidad innata constituye la primera línea de defensa contra los microbios. Consta de mecanismos de defensa celulares y bioquímicos que existen antes incluso de la infección y que pueden responder con rapidez a ella. Estos mecanismos reaccionan con los productos de los microbios y de las células dañadas, y responden de una forma prácticamente idéntica a infecciones repetidas (1).

Los mecanismos de la inmunidad innata responden a estructuras que son comunes a grupos de microbios relacionados y no pueden distinguir diferencias finas entre ellos. Los principales componentes de la inmunidad innata son: 1) barreras físicas y químicas, como el epitelio y las sustancias químicas antimicrobianas producidas en las superficies epiteliales; 2) células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos), células dendríticas, y linfocitos citolíticos naturales (células *natural killer*) y otras células linfocíticas innatas, y 3) proteínas sanguíneas, incluidos miembros del sistema del complemento y otros mediadores de la inflamación (1,3).

1.2.2 Componentes de la inmunidad adaptativa

Diferente a las respuestas de la inmunidad innata, existen otras respuestas inmunitarias estimuladas por la exposición a microorganismos infecciosos que

aumentan en magnitud y capacidades defensivas con cada exposición sucesiva a un microbio en particular. Debido a que esta forma de inmunidad surge como respuesta a la infección y se adapta a ella, se denomina inmunidad adaptativa (1).

La inmunidad adaptativa se caracteriza por la capacidad de distinguir diferentes sustancias, lo que se llama especificidad, y responder de forma más vigorosa a exposiciones repetidas al mismo microbio, lo que se conoce como memoria. Las células de la inmunidad adaptativa son los linfocitos T (inmunidad celular), de los cuales básicamente existen los linfocitos TCD4+ (cooperadores) y los TCD8+ (citotóxicos), y los linfocitos B, estos últimos son los productores de anticuerpos o inmunoglobulinas (inmunidad humoral). Las sustancias que suscitan respuestas inmunitarias específicas o son reconocidas por linfocitos o anticuerpos se llaman antígenos (1,3).

1.3 Linfocitos B y respuesta de anticuerpos

1.3.1 Desarrollo de los linfocitos B

La formación de células B maduras es independiente del contacto con antígenos y tiene lugar en los órganos linfoides primarios, el hígado fetal durante la gestación, y subsecuentemente, en la médula ósea durante el resto de la vida. Una serie de estados de desarrollo y maduración, desde una célula precursora pluripotente hasta una célula B madura ocurren en estos sitios (4).

Durante este proceso de maduración de una célula B, ocurre un complejo mecanismo que constituye el evento clave para el desarrollo de un repertorio diverso de especificidades de anticuerpos, denominado rearrreglo funcional de los genes de la cadena pesada de inmunoglobulinas y de los segmentos de la cadena liviana del receptor de célula B (BCR) (1,4). Después de una estimulación antigénica en conjunto con otras señales, lo cual tiene lugar en los órganos linfoides periféricos como los nódulos linfoides, una célula B madura se diferencia a una célula efectora productora de anticuerpos (célula plasmática) o a una célula de memoria (4).

1.3.2 Anticuerpos o inmunoglobulinas

Los anticuerpos son proteínas circulantes que se producen en los vertebrados en respuesta a la exposición a estructuras extrañas conocidas como antígenos, presentan una elevada diversidad y especificidad para reconocer estructuras moleculares extrañas, y son los mediadores de la inmunidad humoral contra todas las clases de microbios. Son proteínas sintetizadas únicamente por células B y existen en dos formas: los anticuerpos unidos a membrana en la superficie de los linfocitos B, los cuales actúan como receptores para el antígeno, y los anticuerpos secretados que neutralizan las toxinas, impiden la entrada y propagación de los microorganismos patógenos y los eliminan (1).

Las moléculas de anticuerpo, o inmunoglobulina (Ig), tienen una estructura de cuatro cadenas peptídicas, integrada con dos cadenas ligeras (L, del inglés *light*) idénticas, y dos cadenas pesadas (H, del inglés *heavy*) también idénticas. Cada cadena L está unida a una cadena H por un enlace disulfuro y por interacciones no covalentes para formar un heterodímero H-L. Dos heterodímeros H-L se unen entre sí para formar la estructura de anticuerpo básica (H-L)₂. Las cadenas pesadas de una molécula de anticuerpo particular determinan su clase o isotipo: IgM (μ), IgG (γ), IgA (α), IgD (δ) o IgE (ϵ) (3).

Las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas constan de regiones amino terminales variables (V) que participan en el reconocimiento del antígeno, al cual se unen en sitios específicos denominados determinantes antigénicos o epítomos, y de regiones carboxilo terminales constantes (C); las regiones C de las cadenas pesadas median las funciones efectoras de los anticuerpos, como por ejemplo la activación del sistema del complemento (1).

1.3.3 Respuesta de anticuerpos dependiente de células T

Este tipo de respuesta es característica frente a antígenos proteínicos y requiere que los linfocitos B específicos interioricen el antígeno, lo procesen y presenten los péptidos a los linfocitos TCD4⁺ cooperadores, que después activan a los linfocitos B, por esta razón, las proteínas se clasifican como antígenos dependientes de células T.

El término linfocito T cooperador surgió del conocimiento de que ellos estimulan, o ayudan, a los linfocitos B a producir anticuerpos. Un tipo especializado de linfocito T cooperador, el folicular, facilita la formación de centros germinales, que son estructuras generadas en los órganos linfáticos donde tienen lugar varios aspectos de la respuesta humoral dependiente de células T (1).

En este tipo de respuesta es esencial la interacción de la proteína CD40 con su ligando (CD40L). CD40 es una glicoproteína transmembrana que funciona como receptor de superficie celular y es expresada de forma constitutiva en la superficie de las células B, mientras que su ligando CD40L, es expresado de forma transitoria en la superficie del linfocito TCD4+, después de su activación mediante la presentación de antígeno y co-estimulación por moléculas expresadas en las células dendríticas (4).

Esta interacción CD40-CD40L sobre la superficie de la célula B conduce a la transcripción de genes específicos que resulta en la expansión clonal, el cambio de clases de inmunoglobulinas para dar los diferentes isotipos, la hipermutación somática que incrementa la afinidad antigénica, y la generación de células de memoria de larga vida y células plasmáticas productoras de anticuerpos; el centro germinal de un nódulo linfoide es el sitio primario para estos eventos (5).

1.3.4 Respuesta de anticuerpos independiente de células T

La respuesta de anticuerpos a antígenos no proteínicos multivalentes, así llamados porque cada molécula contiene múltiples epítomos idénticos, como los polisacáridos, algunos lípidos y los ácidos nucleicos, no requiere de linfocitos T cooperadores. Esta respuesta desencadena la unión del BCR a su antígeno, y pueden potenciarse mediante las señales de otros receptores de los linfocitos B (1). Mientras la respuesta dependiente de células T puede requerir varios días en desarrollarse, la independiente de células T está caracterizada por una rápida producción de anticuerpos, sobre todo de IgM, con un cambio limitado de isotipo a IgG e IgA, además, no se produce la maduración de afinidad antigénica y las células B de memoria solo se generan frente a antígenos polisacáridos (4).

Los antígenos que producen respuestas independiente de células T, utilizan varias vías de activación tales como, el entrecruzamiento de los BCRs en la superficie de la célula B mediante sus epítotos antigénicos repetitivos, como es el caso de bacterias con cápsulas de polisacáridos, o bien, la activación de células B mediante las vías de los receptores tipo toll (TLRs) (6). En respuesta a la activación de los TLRs, las células B pueden aumentar la expresión de factores de la superfamilia del TNF (factor de necrosis tumoral), uno de ellos denominado BAFF (factor de activación de célula B de la familia del TNF) y otro, un ligando de inducción de proliferación denominado APRIL; estos factores pueden mediar el cambio de isotipo de inmunoglobulinas cuando se unen a su receptor común denominado TACI (receptor de la familia del TNF), sobre la célula B (4).

1.3.5 Subpoblaciones de células B

Subpoblaciones especializadas de células B, llamadas células B de la zona marginal y células B1, son mediadoras de la respuesta humoral independiente de células T. Las células B de la zona marginal residen en el bazo, entre el límite de la pulpa blanca y roja en la lámina linfoide periarteriolar, donde encuentran y reaccionan contra patógenos transportados por la sangre. Su respuesta a antígenos polisacáridos las hace particularmente importantes para la defensa contra bacterias encapsuladas potencialmente mortales y de elevada prevalencia en humanos, como por ejemplo, el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) (7).

Las células B1 se encuentran en las cavidades peritoneal y pleural, producen anticuerpos de especificidad restringida a estructuras comunes de los patógenos, tales como los polisacáridos de la pared celular bacteriana. Serían las responsables de producir los “anticuerpos naturales” contra bacterias en el huésped que aún no se han enfrentado a las mismas, y responden rápidamente a patógenos que ingresan por las mucosas (8). El receptor TACI se encuentra altamente expresado en las células B de la zona marginal y en las B1, y probablemente tendría un rol importante en la activación de estas poblaciones celulares (9).

En resumen, distintos subgrupos de linfocitos B responden de forma preferente a diferentes tipos de antígenos (Figura 1), así, los linfocitos B foliculares en los órganos linfáticos periféricos producen, sobre todo, respuestas de anticuerpos a antígenos proteínicos con la colaboración de los linfocitos TCD4+. Los linfocitos B de la zona marginal del bazo y otros tejidos linfáticos reconocen antígenos multivalentes, como polisacáridos de transmisión hemática, y desencadenan principalmente respuestas de anticuerpos independientes del linfocito T. Los linfocitos B1 en los tejidos mucosos y el peritoneo también median en gran medida respuestas independientes del linfocito T (1).

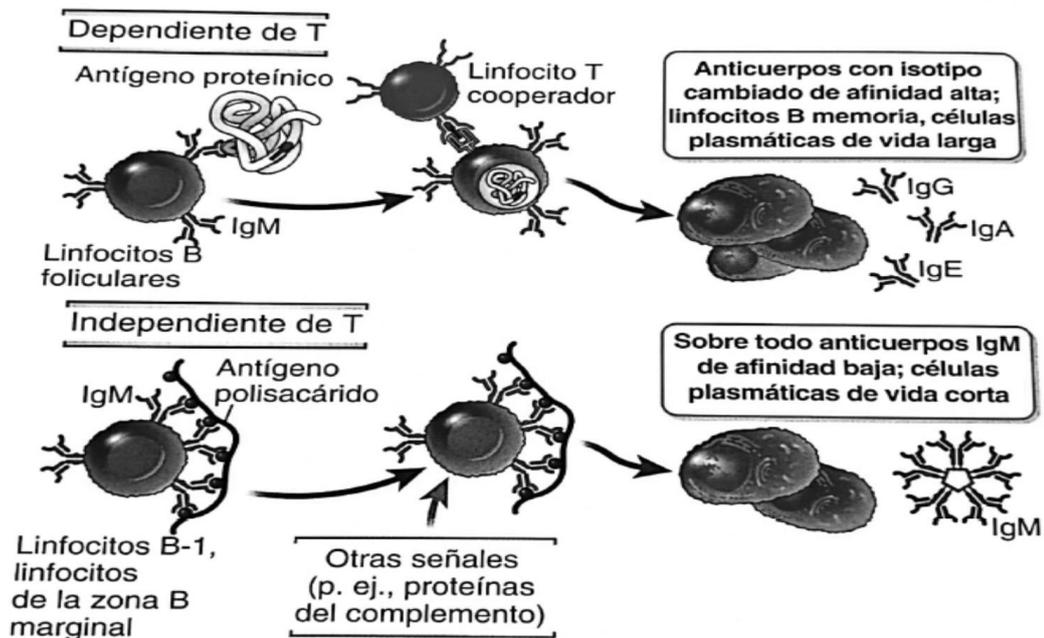


Figura 1. Diferentes subgrupos de linfocitos B median diferentes tipos de respuestas de anticuerpos. Los linfocitos B foliculares responden a antígenos proteínicos y así inician respuestas de anticuerpos dependientes de células T. Las respuestas independientes de células T frente a antígenos multivalentes están mediadas, sobre todo, por linfocitos B de la zona marginal en el bazo y linfocitos B1 en las mucosas. (Fuente: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y molecular. 9na ed. Barcelona, España: Elsevier Inc; 2018).

1.3.6 Respuesta de anticuerpos a bacterias con cápsulas de polisacáridos

El significado práctico de los antígenos independientes de células T es que muchos polisacáridos de la pared celular bacteriana pertenecen a esta categoría y que la inmunidad humoral es el principal mecanismo de defensa del huésped contra las infecciones producidas por estas bacterias encapsuladas y extracelulares, como el *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) y *Neisseria meningitidis* (meningococo). Los mecanismos efectores usados por los anticuerpos para combatir estas infecciones son la neutralización, la opsonización y fagocitosis, y la activación del complemento por la vía clásica (1).

Un claro ejemplo de la importante función que tienen los anticuerpos en la defensa del organismo frente a bacterias encapsuladas como el neumococo y *Haemophilus influenzae*, es la presencia de infecciones crónicas, recurrentes y/o severas causadas por estos patógenos en sujetos con deficiencias congénitas de la inmunidad mediada por anticuerpos (4).

1.4 Deficiencias del sistema inmunitario

1.4.1 Generalidades

El sistema inmunitario está compuesto por células altamente especializadas, proteínas, tejidos y órganos. Los linfocitos T y B, las células fagocíticas y factores solubles como las proteínas del complemento son los principales componentes del sistema inmune y tienen una función crítica y específica en la defensa del organismo. Cuando uno o más componentes de este complejo sistema inmune no funcionan adecuadamente o están ausentes, se originan las deficiencias del sistema inmunitario o inmunodeficiencias (2).

La integridad del sistema inmunitario es esencial para la defensa contra los microorganismos infecciosos y, por tanto, para la supervivencia de todos los sujetos. Los defectos de uno o más de sus componentes pueden llevar a trastornos graves y a menudo mortales, que son las inmunodeficiencias, las cuales se clasifican en dos grupos: las congénitas, también llamadas inmunodeficiencias primarias (IDPs), son defectos génicos que aumentan la susceptibilidad a infecciones y que se manifiestan

con frecuencia en la infancia, pero a veces en fases posteriores de la vida y, las inmunodeficiencias adquiridas o secundarias que no son hereditarias, sino que aparecen como consecuencia de la malnutrición, el cáncer, el tratamiento con inmunosupresores y/o la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana-VIH (1).

1.4.2 Inmunodeficiencias primarias

1.4.2.1 Generalidades

Las inmunodeficiencias primarias (IDPs) son trastornos congénitos poco frecuentes, crónicos y severos del sistema inmunitario, en los cuales los pacientes afectados no pueden desarrollar una respuesta inmunitaria suficientemente protectora, conduciendo a un incremento en la susceptibilidad a infecciones (10). Estas patologías constituyen desórdenes hereditarios en la función del sistema inmune, muchas de ellas están asociadas a un único defecto génico mientras que otras pueden deberse a defectos poligénicos, o incluso, pueden representar interacciones de características determinadas genéticamente con el ambiente o el estrés por infecciones (2).

La incidencia real de estas patologías no se ha establecido claramente; las incidencias estimadas son muy variables, desde 1:300 a 1:700 nacidos vivos para la deficiencia de inmunoglobulina A, descrita como la inmunodeficiencia primaria más común, hasta 1:200000 nacidos vivos para la relativamente rara enfermedad granulomatosa crónica (11). Las IDPs fueron tradicionalmente consideradas como enfermedades raras afectando a aproximadamente 1:10000 a 1:50000 nacidos vivos según el último reporte del Comité de Expertos de la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología (IUIS), donde utilizan por primera vez la denominación de “Errores Innatos Humanos de la Inmunidad” para las inmunodeficiencias primarias (12).

Una inmunodeficiencia primaria (IDP) debe sospecharse cuando las infecciones se presentan de forma más frecuente y severa que lo usual, además, las infecciones por microorganismos oportunistas y la falta de una respuesta adecuada a tratamientos convencionales, también podrían ser señales de una IDP (13). También es importante

explorar la historia familiar para el reconocimiento de los trastornos genéticos, la que puede revelar consanguinidad en los padres, muertes infantiles tempranas inexplicables en la familia o aparición de síntomas similares en los miembros de la familia. Por ejemplo, varios hermanos afectados de la misma familia apuntan a una herencia autosómica recesiva, sin embargo, muchas mutaciones pueden ser nuevas y los antecedentes familiares estar ausentes, incluso si hay un defecto genético (2).

Cabe mencionar que varias asociaciones internacionales han establecido signos de sospecha para IDPs, por ejemplo la Fundación Jeffrey Modell de los Estados Unidos, creada hace más de 30 años y cuyo primer proyecto en el año 1990 fue desarrollar las “10 señales de advertencia de IDPs”, las que fueron revisadas en el 2010 y algunas de ellas son: cuatro o más otitis nuevas en un año, dos o más sinusitis graves en un año, dos o más neumonías en un año, abscesos recurrentes en órganos o piel, entre otras (14). El número de pacientes diagnosticados con IDPs se ha incrementado alrededor del mundo, no obstante, los médicos continúan conociendo poco sobre estos desórdenes y muchos pacientes son diagnosticados tardíamente, sufriendo complicaciones por las infecciones crónicas, daños irreversibles de algunos órganos o incluso la muerte antes de un diagnóstico definitivo. El diagnóstico oportuno y el tratamiento apropiado son la clave para el manejo exitoso de pacientes con IDPs (2).

1.4.2.2 Clasificación de las inmunodeficiencias primarias

El Comité de Expertos de la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología (IUIS), actualiza y publica cada dos años una clasificación de IDPs basada en los defectos génicos subyacentes. Existen actualmente un poco más de 400 inmunodeficiencias primarias, y la nueva denominación para este grupo de enfermedades es la de “Errores Innatos Humanos de la Inmunidad”, un término nuevo aún no utilizado ampliamente por los grupos que trabajan y publican sobre estas patologías, las cuales se clasifican en las siguientes categorías: inmunodeficiencias que afectan la inmunidad celular y humoral (o combinadas), inmunodeficiencias combinadas con características asociadas o sindrómicas, deficiencias predominantes de anticuerpos (DPA), enfermedades de desregulación inmune, defectos congénitos del número o función de fagocitos, defectos en la inmunidad intrínseca e innata,

enfermedades autoinflamatorias, deficiencias del complemento, insuficiencias de la médula ósea y fenocopias de errores innatos de la inmunidad (12).

Además de esta clasificación basada en los defectos génicos, el Comité de Expertos IUIS reporta también cada dos años una clasificación fenotípica de estas patologías, la cual consiste en algoritmos de diagnóstico sencillos de interpretar y de mucha utilidad para la orientación diagnóstica. Así, estos algoritmos diagnósticos están basados en el fenotipo clínico e inmunológico (de laboratorio) del paciente, para cada una de las categorías de los errores innatos de la inmunidad/inmunodeficiencias primarias (15).

Por otra parte, una herramienta muy valiosa para el diagnóstico y el manejo terapéutico de las IDPs son los criterios establecidos por la Academia Americana de Asma, Alergia e Inmunología (AAAAI) y por el Colegio Americano de Asma, Alergia e Inmunología (ACAAI). Basados principalmente en la clasificación de los expertos IUIS, estos criterios presentan con mayor detalle el fenotipo clínico e inmunológico para cada IDP, de modo a definir y establecer con mayor precisión el diagnóstico de la patología, además de proporcionar las opciones terapéuticas actuales para cada grupo de inmunodeficiencia primaria (11).

1.5 Deficiencias predominantes de anticuerpos

1.5.1 Generalidades

Las deficiencias predominantes de anticuerpos (DPA), también denominadas deficiencias humorales, son las IDPs más frecuentes y comprenden aproximadamente la mitad de todos los casos diagnosticados (11). La mayoría de las DPA que han sido definidas a nivel molecular surgen de defectos intrínsecos del desarrollo y/o función de células B, que son los linfocitos especializados en producir y secretar anticuerpos. Sin embargo, ciertos desórdenes que se manifiestan principalmente por una producción alterada de anticuerpos, también pueden surgir de defectos en las células T cooperadoras en la función de células B. Por otra parte, las bases moleculares de muchas deficiencias de anticuerpos aún no han sido establecidas, y los pacientes son diagnosticados y tratados según su fenotipo clínico e inmunológico (4).

1.5.2 Clasificación de las deficiencias predominantes de anticuerpos

La clasificación genotípica y fenotípica actual de los expertos IUIS contempla las siguientes DPA: inmunodeficiencia común variable (CVID), agammaglobulinemia ligada al cromosoma X (XLA) o de Bruton, síndrome de hiper IgM (HIgM), deficiencia selectiva de IgA (DSIgA), deficiencias de subclases de inmunoglobulina G, la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD, por el inglés “*specific antibody deficiency*”), entre otras deficiencias de anticuerpos (12,15). Las cuatro primeras cursan con una reducción leve, moderada o severa de los niveles de inmunoglobulinas en sangre (hipogammaglobulinemia) de uno o más isotipos (IgA, IgG y/o IgM), a diferencia de SAD, donde los niveles de inmunoglobulinas totales y las subclases de IgG se encuentran normales pero la respuesta de anticuerpos contra antígenos polisacáridos está alterada (11,16).

1.5.3 Características de las deficiencias predominantes de anticuerpos

1.5.3.1 Fenotipo inmunológico

La hipogammaglobulinemia y/o la respuesta alterada de anticuerpos específicos, como los dirigidos a antígenos polisacáridos, son los principales fenotipos inmunológicos en las DPA, aunque estas alteraciones también pueden observarse en las inmunodeficiencias combinadas y, además, pueden presentarse en inmunodeficiencias específicas que afectan principalmente la respuesta inmune celular. Se define a la hipogammaglobulinemia como una disminución de los niveles séricos de inmunoglobulinas totales IgA, IgG y/o IgM por debajo del rango considerado de referencia para la edad del paciente (4).

En la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X (XLA), así como en las formas autosómicas recesivas, se observan números extremadamente bajos o incluso ausencia de linfocitos B en sangre periférica, y debido a que estas células son las productoras de anticuerpos del sistema inmune, los niveles séricos de todos los isotipos de inmunoglobulinas están casi indetectables. La inmunodeficiencia común variable (CVID) se caracteriza por una reducción de IgA e IgG, con o sin reducción de IgM, además de una alterada respuesta de anticuerpos dirigidos a polisacáridos. Las

deficiencias de anticuerpos consideradas menos severas como la DSIgA, la deficiencia de subclases de IgG, la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) y la hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia, están asociadas a una disminución muy variable de clases o subclases de inmunoglobulinas séricas, a veces acompañada de una defectuosa respuesta de anticuerpos a antígenos polisacáridos (11).

1.5.3.1 Características clínicas

El espectro clínico de las DPA es muy amplio, a pesar de ello, la característica clínica predominante es la presencia de infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior e inferior, siendo bacterias encapsuladas como *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) y *Haemophilus influenzae*, los patógenos comúnmente aislados en pacientes con estos trastornos, resaltando el rol de los anticuerpos en la protección frente a bacterias extracelulares y encapsuladas (4).

Por otra parte, las deficiencias de anticuerpos se asocian a la presentación de enfermedad alérgica, probablemente debido a que la ausencia o los niveles reducidos de IgA, IgG y/o IgM en pacientes con DPA conducen a que los alérgenos atraviesen las mucosas y aparezca la sensibilización, producción de IgE específica y finalmente la reacción alérgica (17). Además, las alergias no tratadas adecuadamente pueden contribuir a la presentación de infecciones con mayor frecuencia y severidad (18).

1.6 Deficiencia de anticuerpos específicos

1.6.1 Generalidades

Los primeros reportes de casos del síndrome de deficiencia de anticuerpos con concentraciones de inmunoglobulinas séricas normales, como se lo llamó inicialmente, fueron realizados en el año 1980 (19); más tarde se reportaron casos donde ya se clasificaba a esta deficiencia como una respuesta alterada a antígenos polisacáridos (20,21), la cual actualmente recibe el nombre de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD, por el inglés “*specific antibody deficiency*”).

La deficiencia de anticuerpos específicos (SAD), clasificada dentro del grupo de las DPA, se caracteriza por una alterada respuesta de anticuerpos a antígenos

polisacáridos. Su prevalencia no ha sido establecida con exactitud, pero se estima que es elevada, con unos pocos estudios que reportan 5 a 10% de esta deficiencia en niños con infecciones recurrentes (4), incluso algunos estudios han reportado frecuencias superiores a 10% en población pediátrica con infecciones respiratorias recurrentes (22,23).

1.6.2 Características de la deficiencia de anticuerpos específicos

1.6.2.1 Fenotipo inmunológico

Los pacientes afectados por la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) presentan una alterada respuesta serológica a antígenos polisacáridos, en presencia de concentraciones séricas normales de inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM, así como niveles séricos normales de las subclases de IgG y respuesta normal a antígenos proteicos (11,24). La principal característica inmunológica es una respuesta deficiente a antígenos polisacáridos tales como los polisacáridos del *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) y los polisacáridos capsulares del *Haemophilus influenzae tipo b* (Hib), mientras que el defecto molecular subyacente es aún desconocido (4).

1.6.2.2 Características clínicas

La principal manifestación clínica en pacientes con SAD es la presencia de infecciones recurrentes del tracto respiratorio, sobre todo las infecciones sinopulmonares como la sinusitis, la otitis media aguda y la neumonía, las cuales son más frecuentes, severas y/o prolongadas que las observadas en individuos con un sistema inmune intacto (25), así, su relación con el historial clínico de infecciones recurrentes, principalmente las del tracto respiratorio, ha sido reportada por varios autores (26,27), además, la falta de respuesta a un tratamiento adecuado en niños alérgicos debería hacer sospechar esta deficiencia, ya que se ha reportado una importante asociación entre esta patología y la enfermedad alérgica (28).

El diagnóstico de SAD ocurre normalmente durante la infancia, aunque también puede detectarse en etapas posteriores de la vida (4). Para su diagnóstico se requiere la demostración de una respuesta deficiente a vacunas polisacáridas

neumocócicas no conjugadas a proteínas (29), de modo a detectar la respuesta alterada de anticuerpos contra polisacáridos del neumococo, lo cual constituye la principal característica inmunológica de esta deficiencia (4).

1.6.3 *Streptococcus pneumoniae* y vacunas neumocócicas

El *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es el principal patógeno causante de neumonía, sepsis, meningitis y otitis media en el humano, mayoritariamente en población pediátrica, adultos mayores a 65 años de edad e inmunocomprometidos. Su principal factor de virulencia es la cápsula de polisacáridos, así, un poco más de 90 polisacáridos capsulares han sido identificados por su capacidad de inducir la producción de anticuerpos específicos de serotipo (30).

Los anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipo muestran una protección elevada, por ello, se concentraron esfuerzos en producir vacunas utilizando combinaciones de los polisacáridos capsulares con mayor inmunogenicidad; la producción y comercialización de estas vacunas ha pasado por un largo proceso donde fueron incluyéndose cada vez más serotipos (31).

1.6.3.1 Vacuna polisacárida neumocócica no conjugada

La vacuna polisacárida neumocócica 23-valente (PPV23) no conjugada a proteínas fue aprobada en 1983, para proveer protección contra el 80% a 90% de los serotipos capsulares del neumococo causantes de enfermedad, conteniendo los siguientes 23 serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19F, 19A, 20, 22F, 23F, y 33F. Es comercializada como una dosis única de 0,5 mL o en un vial multidosis de 5,0 mL, para ser administrada de forma intramuscular o subcutánea en el musculo deltoides, o en la parte lateral del muslo medio. Los efectos secundarios comunes incluyen reacciones leves en el sitio de inyección (hinchazón), dolor de cabeza, fatiga y mialgia (32).

La PPV23 contiene polisacáridos purificados que inducen una respuesta de linfocitos B independiente de las células T, por esta razón no es suficientemente inmunogénica en niños menores de 2 años, quienes presentan escasa respuesta a

antígenos polisacáridos (31). La capacidad para producir anticuerpos contra antígenos polisacáridos ha sido relacionada con la presencia de una subpoblación de linfocitos B CD21⁺ en la zona marginal del bazo, los cuales aparecen en el sitio desde el tercer año de vida, aproximadamente (33), por ello, esta inmadurez fisiológica del sistema inmunitario durante la infancia temprana se asocia con un riesgo incrementado de infecciones por bacterias encapsuladas como el neumococo, a la vez, sería la causa de la respuesta insuficiente a la PPV23 en niños pequeños (34).

Está recomendado que todo adulto mayor de 65 años de edad reciba una dosis de PPV23, además, entre la edad de 5 a 64 años se recomienda que tanto niños como adultos en riesgo reciban esta vacuna, así, las condiciones médicas consideradas de riesgo son enfermedades cardiovasculares y pulmonares crónicas, diabetes mellitus, inmunodeficiencias congénitas, cáncer, trasplantes, entre otras (35).

1.6.3.2 Vacunas polisacáridas neumocócicas conjugadas a proteínas

De modo a inducir una respuesta inmune protectora en niños menores de 2 años de edad, se desarrollaron las vacunas con polisacáridos conjugados a proteínas (toxinas diftéricas), los que generan una respuesta de anticuerpos dependiente de células T, más efectiva en niños pequeños (31). Así, la primera vacuna polisacárida neumocócica conjugada fue la 7-valente (PCV7), aprobada en el 2002 y que incluía los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F; la misma redujo de forma importante la tasa de hospitalizaciones por neumonía en niños menores de 2 años y en adultos mayores de 60 años, también redujo la portación de los serotipos de neumococo que contiene la vacuna, pero no disminuyeron las tasas de otitis media (36).

La PCV7 fue seguida por la vacuna conjugada polisacárida neumocócica 10-valente (PCV10), y luego, la vacuna conjugada 13-valente (PCV13), ambas cubriendo un mayor número de serotipos y, por tanto, incrementando potencialmente la protección contra las enfermedades neumocócicas invasivas alrededor del mundo. La PCV10 incluye los mismos siete serotipos que la PCV7, más los serotipos 1, 5 y 7F; y la PCV13, incluye todos los serotipos de la PCV10, más el 3, 6A y 19A (37).

1.6.3.3 *Streptococcus pneumoniae* y vacunas polisacáridas neumocócicas en Paraguay

Un estudio realizado en Paraguay en menores de 15 años de edad con meningitis bacteriana aguda, reportó que en el periodo 2003-2006 el *S. pneumoniae* (neumococo) fue el principal causante de la meningitis (44,4% de los casos), con predominio de los serotipos 1, 5, 6B y 14 (38). En una investigación realizada en el marco de la vigilancia del *S. pneumoniae* del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPyBS), en el periodo 2010-2018, observaron que la frecuencia de aislamiento de esta bacteria fue de 74,9% para casos de neumonías, 18,4% para meningitis y 6,7% para sepsis; el serotipo 14 fue el más frecuente (39).

Por otro lado, un trabajo multicéntrico realizado en el periodo 2010-2014, en el que participó Paraguay a través del Instituto de Investigaciones en ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA), reportó la portación nasofaríngea de neumococo en niños con neumonía y en niños sanos; *S. pneumoniae* fue detectado en 68,2% de los casos de neumonías y 47,5% de los controles sanos. Específicamente para Paraguay, se observó predominancia del serotipo 14 (40).

En el año 2015 se reportaron los resultados de un análisis de costo-efectividad de la introducción de la PCV en el país. La distribución de los casos de enfermedad neumocócica invasiva por edad, fue estimada usando los registros médicos de pacientes con neumonía y meningitis del Instituto de Medicina Tropical (IMT) del MSPyBS, así, el mayor riesgo de contraer enfermedad neumocócica está entre los menores de 2 años de edad (75,4% de los casos). Este estudio mostró que la vacunación con PCV en Paraguay reduciría la morbi-mortalidad en niños menores de 5 años, además, la introducción de la PCV10 o la PCV13 sería costo-efectiva en comparación a los escenarios de no-vacunación, lo cual contribuyó en la toma de decisiones para la introducción de la PCV en Paraguay (41).

Según datos del Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI) del MSPyBS (42), la PCV10 se introdujo en nuestro país en el año 2012 y pasó a formar parte del esquema de vacunación en niños menores de 2 años. Actualmente se utiliza la PCV13, que se introdujo en el año 2017, y es aplicada en tres dosis, a los 2 y 4 meses de edad,

más una dosis de refuerzo a los 12 meses. Por otra parte, la PPV23 se utiliza desde el 2011 en nuestro país y está indicada para adultos mayores y grupos de riesgo como enfermos crónicos.

1.7 Diagnóstico de la deficiencia de anticuerpos específicos

1.7.1 Criterios diagnósticos

La principal característica de la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) es la producción deficiente de anticuerpos contra los polisacáridos del neumococo, de allí la importancia de cuantificar los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización para diagnosticar esta deficiencia (24,29). En general, cuando una respuesta deficiente de anticuerpos es sospechada, es una práctica estándar proporcionar un desafío antigénico al paciente mediante inmunización para determinar si posee la habilidad de generar respuesta de anticuerpos a ese antígeno, procedimiento denominado vacunación diagnóstica y utilizado en la práctica clínica de rutina (29). La deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) es normalmente diagnosticada por determinación de la habilidad para generar títulos protectivos de anticuerpos anti-neumococo en respuesta a la inmunización con la PPV23 (11).

Con respecto a criterios diagnósticos utilizados para IDPs, pueden mencionarse los de grupos internacionales de expertos que los elaboran y reportan con cierta periodicidad, como la Sociedad Europea para Inmunodeficiencias-ESID (16), la Academia Americana de Asma, Alergia e Inmunología-AAAAI(11) y la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología-IUIS (12). Los criterios diagnósticos más frecuentemente utilizados en los trabajos científicos publicados son los de la AAAAI, los cuales definen a la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) por la presencia de infecciones respiratorias recurrentes y una respuesta deficiente a polisacáridos capsulares del neumococo en pacientes mayores de 2 años de edad, con niveles normales de IgA, IgG, IgM y subclases de IgG (11).

1.7.2 Métodos de laboratorio para detectar la deficiencia de anticuerpos específicos

Los ensayos para determinar la respuesta de anticuerpos anti-neumococo son de dos tipos: los que miden anticuerpos totales IgG frente a los 23 serotipos incluidos en la PPV23, llamado “ensayo global”, y los que determinan anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipo, ambos por el método de ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) (34). Además, en los últimos años se han estandarizado otros tipos de pruebas para medir anticuerpos específicos de serotipo basadas en ensayos multiplex de tecnología Luminex™ (43).

1.7.2.1 Ensayos para determinar anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipos

El método considerado *gold standard* (prueba de referencia) es el ELISA desarrollado y estandarizado por la Organización Mundial de la Salud (ELISA OMS), para evaluar la respuesta a nuevas vacunas polisacáridas conjugadas que iban produciéndose (44). Si bien el ELISA OMS es considerado el único método confiable para detectar SAD (24,45), posee la desventaja de que solo se encuentra disponible en muy pocos laboratorios, en general, aquellos de investigación altamente calificados, no así en laboratorios clínicos como práctica de rutina, debido a la dificultad para su implementación y su elevado costo, ya que se trata de un ELISA por separado para cada serotipo de neumococo cuyos anticuerpos serán evaluados, lo cual además de costo requiere de mucho tiempo (24).

El ELISA OMS permite evaluar anticuerpos específicos dirigidos a los 23 serotipos contenidos en la PPV23, no obstante, algunos estudios han demostrado que la evaluación de 5 a 7 serotipos es confiable en el contexto del diagnóstico de SAD (24), incluso se recomienda que para pacientes con dosis previas de PCV, se estudien al menos siete serotipos exclusivos de la PPV23 (25). Lopez et al. 2017(46), estudiaron una cohorte de pacientes adultos con sospecha de IDPs y evaluaron anticuerpos frente a 7 serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F) del neumococo; para validar la relevancia de la respuesta a dicha cantidad de serotipos, las muestras fueron también testadas contra nueve serotipos adicionales (1, 3, 5, 6A, 7F, 19A, 10A, 12F, y 15B) y los resultados obtenidos en ambos casos fueron comparables, por tanto, concluyeron

que la evaluación de siete serotipos es confiable para la detección de una respuesta anti-neumococo deficiente post-inmunización con PPV23 y el diagnóstico de SAD.

Un método más sencillo de medir anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipo está basado en un ensayo multiplex de perlas fluorescentes por tecnología Luminex™, el cual permite la cuantificación simultánea de anticuerpos contra múltiples serotipos. Este método es actualmente usado en la mayoría de los laboratorios de referencia de los Estados Unidos (43,47), no obstante, es un método limitado por el acceso a un kit comercial (xMAP Pneumo14, panel para inmunidad a neumococo, Luminex™), que si bien fue utilizado previamente (47), en la actualidad no está siendo producido, por ello, la modalidad *in-house* es la utilizada (48,49), y otro aspecto limitante es que el laboratorio debe contar con el equipo.

1.7.2.2 Ensayo global para medir anticuerpos anti-neumococo

Una tercera opción para medir anticuerpos anti-neumococo y detectar SAD, es un test ampliamente difundido denominado ensayo de ELISA global, el cual mide los anticuerpos totales IgG a los 23 serotipos presentes en la PPV23, como un pool y no diferenciándoles por serotipos. Este ensayo es, la mayoría de las veces, el de elección debido a su simplicidad de ejecución y bajo costo, además, existe un kit comercial (VaccZyme, del Grupo Binding Site Ltd., Birmingham, UK) de fácil acceso en la mayoría de los países (24,46).

El ensayo de ELISA global puede tener algunas ventajas sobre la medición de anticuerpos frente a serotipos individuales, por ejemplo, la existencia de un test comercial estandarizado y ampliamente usado, a diferencia de la medición de serotipos, cuyos métodos deben ser ensamblados y validados por cada laboratorio. Se ha propuesto que este test global constituye una herramienta de tamizaje muy importante para la evaluación de pacientes con sospecha de SAD, derivándolos a análisis de serotipo cuando sea necesario (50).

Dziadzio et al. 2017, encontraron buena concordancia entre la determinación de IgG anti-neumococo por el ELISA global y la medición de 13 serotipos por ensayo multiplex (48). López et al. 2017, compararon el ELISA global con el ELISA OMS

para evaluar su valor clínico en la detección de una respuesta deficiente a polisacáridos del neumococo, y encontraron un 100% de especificidad para un punto de corte de 110 mg/L de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con PPV23, y una sensibilidad de 58% cuando evaluaron 7 serotipos; los resultados fueron comparables cuando se evaluaron 16 serotipos (especificidad de 100% y sensibilidad de 56%), concluyendo que el test global es útil en un primer paso de la evaluación diagnóstica de SAD, teniendo presente su limitación de sensibilidad en la detección de una respuesta deficiente a polisacáridos del neumococo (46). Está descrito que resultados en el rango normal por el ELISA global podrían deberse a, anticuerpos frente a la mayoría o todos los serotipos presentes en la PPV23, en cuyo caso se tendría un verdadero negativo para SAD, o a la presencia de anticuerpos elevados a un solo serotipo o a unos pocos, lo cual representaría un falso negativo para SAD (24).

La realidad actual con relación a las pruebas de laboratorio para detectar SAD, es que la mayoría de los proveedores de atención a la salud no tienen acceso al ELISA OMS, algunos llegan a acceder a los ensayos multiplex, pero al comparar ambos métodos no se observan buenas concordancias (49); estos aspectos siguen representando un inconveniente para llegar al diagnóstico confiable de SAD. Esta falta de correlación entre los diferentes métodos podría deberse a que, la inmunogenicidad de diferentes serotipos presentes en la PPV23 es extremadamente variable y la mayoría de los pacientes no responden de la misma manera, además, varios de los polisacáridos tienen una inmunogenicidad dependiente de la edad (51). Un obstáculo adicional es la amplia oferta actual de PCVs para niños pequeños, lo cual provoca una respuesta inmunológica combinada y puede enmascarar una deficiencia de anticuerpos a polisacáridos, haciendo aún más desafiante el diagnóstico de SAD mediante la respuesta a la PPV23 (49).

1.7.2.3 Respuesta adecuada de anticuerpos a polisacáridos del neumococo

La definición estricta de SAD considera la medición de anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipo mediante el ELISA OMS (11,29), así, títulos post-inmunización $\geq 1,3$ $\mu\text{g/mL}$ para cada serotipo son indicativos de una respuesta adecuada, por tanto, este nivel es considerado como un punto de corte para anticuerpos

anti-neumococo post-inmunización con la PPV23 (45). Cuando los títulos basales (pre-inmunización) son superiores a 1,3 µg/mL, se sugiere considerar un incremento de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización de dos veces con respecto a los niveles séricos pre-inmunización (basales), como indicativo de una respuesta adecuada (29).

Lopez et al. 2017 (46), evaluaron el desempeño diagnóstico del ELISA global con relación al ELISA OMS en una población de adultos con infecciones recurrentes y determinaron un punto de corte de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización de 110 mg/L como indicativo de una respuesta adecuada a la PPV23. Además, se recomienda que la evaluación de la inmunidad y las acciones terapéuticas para SAD estén también basadas sobre la evidencia clínica, y no exclusivamente sobre una respuesta de anticuerpos definida arbitrariamente (24).

Otro punto importante a considerar cuando se evalúa la respuesta de anticuerpos a polisacáridos es la edad del paciente. Se ha reportado que los títulos de anticuerpos pre y post-inmunización con PPV23 para todos los serotipos del neumococo, así como el número de serotipos con respuesta adecuada, se incrementaron con la edad (52). Rose et al. 2013 (34), utilizaron el ensayo de ELISA global para evaluar a un total de 457 niños clínicamente saludables de 6 meses a 18 años de edad; 88 de ellos contaban con PCV y/o PPV23 como parte de sus esquemas de vacunación, y observaron un incremento de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo con la edad, tanto en el grupo no inmunizado como en los niños que tenían vacunación neumocócica previa (34). En el mencionado estudio, no se realizó el procedimiento de vacunación diagnóstica con PPV23 en busca de SAD, por lo cual, los valores reportados corresponden a rangos de referencia para anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización en niños sanos.

1.7.2.4 Niveles séricos protectivos de anticuerpos anti-neumococo

En cuanto a qué títulos de anticuerpos anti-neumococo son considerados protectivos, las recomendaciones de la OMS se basan en los anticuerpos específicos de serotipo. Una concentración $\geq 0,35$ µg/mL es predictivo de seroprotección para infección neumocócica invasiva, sin embargo, un nivel $\geq 1,3$ µg/mL es estimado como

protectivo para infecciones de superficies mucosas (53), por ello, este valor es utilizado como un punto de corte en la respuesta a la PPV23(29). Estos estudios estuvieron basados en cohortes pequeñas y tales niveles protectivos en respuesta a la vacunación neumocócica deberían ser interpretados con precaución (54).

Por otra parte, Rose et al. 2013 (34) estudiaron a niños sanos que contaban con dosis previas de la PCV en sus esquemas de vacunación, y observaron que el ensayo de ELISA global arrojó un valor de corte de 27,5 mg/L como indicativo de seroprotección, considerando el corte de $\geq 0,35$ $\mu\text{g/mL}$ para anticuerpos anti-serotipos por el ELISA OMS.

1.8 Otras consideraciones sobre la deficiencia de anticuerpos específicos

1.8.1 Mecanismos alterados

Está documentado que algunos pacientes pueden presentar un retraso en la maduración fisiológica de su sistema inmune, así por ejemplo, los niños menores de 2 años de edad responden de forma inadecuada a los antígenos polisacáridos y esto puede extenderse hasta edades mayores, por tanto, niños pequeños diagnosticados con SAD pueden resolver la patología con el tiempo, y la explicación sería un retraso en el proceso de maduración de su inmunidad (25).

No existe un único mecanismo inmunológico identificado para la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD). Las células B CD21+ y las de memoria con cambio de clase, pueden estar disminuidas en pacientes con SAD, pero también se han visto disminuidas en pacientes con infecciones recurrentes sin la deficiencia. Estas células B de memoria con cambio de clase podrían tener un rol importante en la protección contra bacterias encapsuladas (55). Anormalidades moleculares congénitas también podrían ser la causa de esta patología, no obstante, el origen y los defectos moleculares subyacentes de SAD aún no han sido identificados (4,45).

1.8.2 Respuesta deficiente a polisacáridos en otras deficiencias del sistema inmunitario

La alteración de la respuesta de anticuerpos a antígenos polisacáridos puede observarse como un componente de una IDP más amplia, así como también en el contexto de múltiples estados de inmunodeficiencias secundarias; estos desórdenes son diagnosticados como el trastorno más general y no son definidos como SAD, no obstante, ponen de manifiesto que un amplio espectro de defectos inmunológicos congénitos pueden estar involucrados en la fisiopatología de las respuestas alteradas a antígenos polisacáridos, los cuales aún se desconocen (25).

Una respuesta deficiente a polisacáridos del neumococo también puede encontrarse como un rasgo de otras inmunodeficiencias primarias y secundarias (56). Las IDPs donde pueden observarse una respuesta deficiente a polisacáridos son: el síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de DiGeorge, inmunodeficiencia común variable (CVID), deficiencia de IgA, deficiencia de subclases de IgG, entre otras, y también puede encontrarse en estados de inmunodeficiencias secundarias como: la esplenectomía, inmunosupresión, malnutrición, síndrome nefrótico, infección por virus de la inmunodeficiencia humana, entre otros (25,57).

1.8.3 Abordaje terapéutico en la deficiencia de anticuerpos específicos

Las opciones de tratamiento para pacientes con SAD planteadas por la AAAAI incluyen, según la severidad y frecuencia de las infecciones, una o más de las siguientes indicaciones: el manejo agresivo de otras condiciones predisponentes a infecciones sinopulmonares recurrentes (asma, rinitis alérgica, rinosinusitis crónica), incrementar la vigilancia y terapia antibiótica para infecciones o el uso de profilaxis antibiótica, inmunización con vacuna conjugada neumocócica y/o terapia de reemplazo con inmunoglobulina humana intravenosa (11,24).

Se ha reportado que los niños con diagnóstico de SAD pueden mejorar los síntomas y los hallazgos inmunológicos en el transcurso de aproximadamente tres años, por tanto, el tratamiento puede ser temporal entre uno y dos años. La forma transitoria de esta deficiencia es más común en niños de 2 a 5 años de edad, sin

embargo, los adolescentes diagnosticados con SAD de forma menos probable resuelven la patología con el tiempo e incluso, este grupo etario, puede experimentar una progresión a formas de IDPs más severas como la CVID (25,58).

1.9 Inmunodeficiencias primarias y deficiencia de anticuerpos específicos en Paraguay

Los casos diagnosticados de IDPs en Paraguay son registrados en el Centro Nacional de Inmunodeficiencia Primaria del Instituto de Medicina Tropical-MSPyBS, y reportados a la Sociedad Latinoamericana para Inmunodeficiencias Primarias (LASID). Desde dicho Centro Nacional y a la fecha, son 32 casos detectados y reportados a partir del año 1992, registrándose las siguientes IDPs: enfermedad granulomatosa crónica, deficiencia de adhesión leucocitaria tipo I y II, deficiencia selectiva de IgA, inmunodeficiencia común variable, inmunodeficiencia combinada severa, síndrome de DiGeorge, agammaglobulinemia ligada al X, neutropenia cíclica y deficiencia de subclases de IgG (59).

Por otra parte, el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la UNA, es el único centro del país donde se realiza un conjunto de pruebas para tamizaje y detección de IDPs, incluyendo la evaluación de: subpoblaciones linfocitarias, funcionalidad de neutrófilos por el ensayo de dihidrorodamina, moléculas de adhesión leucocitaria CD18-CD15 y niveles séricos de inmunoglobulinas (IgA, IgG, IgM e IgE), sin embargo, hasta la fecha no se dispone del método para evaluar anticuerpos anti-neumococo y poder detectar SAD; este método tampoco estaría disponible en laboratorios públicos y privados del país, lo que representaría el principal motivo de que no exista información sobre casos diagnosticados de esta deficiencia en Paraguay.

También cabe mencionar que, en el IICS se trabaja desde el 2013 en una línea de investigación para fortalecer el diagnóstico y el registro de IDPs en Paraguay. Así, se realizaron estudios enfocados a la detección de enfermedad granulomatosa crónica (60–63) y de deficiencias de anticuerpos (64), en este último estudio no se contempló la detección de SAD por el motivo ya mencionado de no contar con la prueba diagnóstica. A pesar de los esfuerzos en esta línea de investigación, la producción

científica sobre IDPs sigue siendo escasa en nuestro país, sumándose a esto, la limitada sospecha clínica por parte de los médicos, lo cual hace suponer un subdiagnóstico y subregistro de estas patologías en el Paraguay.

Por todo lo expuesto, se planteó la realización de este trabajo con el propósito de detectar casos de SAD mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en población pediátrica con infecciones recurrentes, de modo a aportar los primeros datos sobre esta deficiencia en Paraguay, además, con este estudio se estaría iniciando el proceso de implementación de la metodología diagnóstica para ofrecerla posteriormente como un nuevo servicio a la comunidad, considerando la importancia de su detección temprana para un tratamiento apropiado que se encuentra disponible y es gratuito en nuestro país, el cual disminuye la frecuencia y severidad de las infecciones mejorando la calidad de vida de los pacientes afectados.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Detectar la presencia de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.

2.2 Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta de anticuerpos anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.
- Determinar los niveles séricos de inmunoglobulinas totales IgA, IgG e IgM en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.
- Evaluar los niveles séricos de subclases de IgG en pacientes con respuesta anti-neumococo deficiente y/o con hipogammaglobulinemia
- Determinar la frecuencia de SAD y de otras deficiencias de anticuerpos identificadas según criterios internacionales de diagnóstico clínico-inmunológico en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.
- Describir características demográficas, clínicas, fenotipo inmunológico y las relacionadas al estado previo de inmunización con vacuna neumocócica conjugada en la población de estudio.
- Describir la distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según la edad y el estado previo de vacunación neumocócica de los pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño

Estudio observacional descriptivo y temporalmente prospectivo por su carácter longitudinal en el tiempo, debido a que la toma de muestra fue realizada en dos momentos, pre y post-inmunización de los pacientes para cuantificar en ambas muestras los anticuerpos anti-neumococo. Este procedimiento de inmunización se ajustó a protocolos internacionales ya establecidos para la detección de la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD), proceso denominado vacunación diagnóstica (24,29), por lo cual, la inmunización no se consideró una intervención del investigador.

3.2 Población

3.2.1 Población de estudio

Se evaluaron pacientes de ambos sexos, de 2 a 17 años de edad, con historia clínica de infecciones recurrentes y que fueron atendidos en consultorios ambulatorios de las especialidades médicas pediatría, infectología pediátrica, asma-alergia e inmunología pediátricas de hospitales públicos de referencia del país, de mayo de 2019 a diciembre de 2020.

3.2.2 Criterios de inclusión

Los pacientes incluidos presentaron al menos un signo de alerta de IDPs establecido por la Fundación Jeffrey Modell (14) y relacionado a deficiencias de anticuerpos: dos o más infecciones pulmonares (neumonías) en un año, tres o más infecciones nuevas del oído (otitis) en un año, dos o más sinusitis graves en un año, abscesos recurrentes en piel y/o en órganos, una o más infecciones profundas/severas como sepsis y meningitis. Se incluyeron pacientes independientemente de su estado de vacunación previa con la PCV7, 10 y/o 13, y sin antecedente de haber recibido previamente la PPV23.

3.2.3 Criterios de exclusión

Fueron excluidos pacientes con diagnóstico ya establecido de alguna inmunodeficiencia primaria o secundaria (VIH, inmunosupresión debida a fármacos),

pacientes con patología hemato-oncológica diagnosticada (leucemias, linfomas, mielomas) y pacientes cuyos responsables (padre/madre/tutor) no consintieron su participación en el estudio.

De los 44 pacientes incluidos inicialmente para participar de este estudio, dos pacientes no cumplieron con el procedimiento de inmunización y fueron finalmente excluidos, por tanto, se analizaron los datos de 42 pacientes y se presentan sus resultados. Cabe mencionar que en el periodo 2019 fueron reclutados 35 pacientes para este estudio, y se estimaba alcanzar el tamaño de muestra de 61 sujetos en el periodo 2020, no obstante, debido a la situación sanitaria del país por la pandemia del coronavirus, fue escasa la concurrencia de niños a los hospitales públicos, ya sea para consultas médicas u hospitalización de pacientes pediátricos que reunieran los criterios de selección, por lo cual, solo pudieron reclutarse 9 pacientes en dicho periodo.

3.2.4 Caracterización de la población

La población de estudio fue caracterizada según variables demográficas, clínicas y las relacionadas al estado previo de inmunización con vacuna neumocócica conjugada (PCV). Las características demográficas fueron la edad, el sexo, la procedencia y la situación educativa de los pacientes. Se estudiaron manifestaciones clínicas como las infecciones recurrentes en episodios ≥ 2 veces por año (del tracto respiratorio superior e inferior, otitis, sinusitis, adenopatías, infección cutánea, entre otras) y la presencia de manifestación clínica severa en al menos una ocasión (neumonía grave, sepsis, abscesos, meningitis). También se evaluaron otras características clínicas como la edad de inicio de las infecciones, número de infecciones por año, hospitalizaciones por año, ingreso a unidad de cuidados intensivos, presencia de enfermedad alérgica y/o autoinmune y antecedentes familiares. En cuanto al estado previo de inmunización con PCV, se consideró el número de dosis en el esquema de vacunación del paciente y el tiempo transcurrido desde la última dosis. Todas estas características fueron medidas por un cuestionario de investigación aplicado a los responsables de los menores (Anexo 1).

3.3 Muestreo y reclutamiento

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. Los pacientes fueron reclutados con la colaboración de médicos especialistas de dos hospitales públicos de referencia del país (Servicio de Pediatría-Consultorio de Inmunodeficiencias Primarias -Instituto de Medicina Tropical-MSPyBS y Unidad Pediátrica Ambulatoria de la Especialidad Asma, Alergia e Inmunología-Hospital de Clínicas-Facultad de Ciencias Médicas-UNA), con quienes se trabaja desde el año 2013 en la Línea de Investigación en IDPs del Departamento de Inmunología del IICS. Además de localizar a los pacientes, el profesional médico brindó al responsable del menor la información sobre el estudio, invitándole a participar del mismo y le proporcionó el número de teléfono del investigador principal, con quien contactaron para proseguir con los siguientes pasos de la investigación (entrevista, consentimiento informado, toma de muestra e inmunización).

3.4 Obtención de muestras y procedimiento de inmunización

3.4.1 Muestras de sangre

A cada paciente se le extrajo un volumen de 3 mL de sangre por punción venosa periférica, siguiendo protocolos seguros de extracción sanguínea venosa y realizado por personal capacitado. Esta muestra fue colocada en tubos secos (sin anticoagulante), puesta por 20 minutos en baño María a 37°C y centrifugada por 10 minutos a 2500 rpm para la obtención de suero. El suero fue congelado a -20°C hasta el momento de su procesamiento. El mismo procedimiento fue realizado para la obtención de muestra pre y post-inmunización de los pacientes.

3.4.2 Procedimiento de inmunización

Los profesionales médicos colaboradores identificaron a pacientes que reunían los criterios de inclusión, brindaron la información sobre el estudio e invitaron a los responsables de los menores a participar; una vez que los mismos aceptaron, el médico especialista realizó una evaluación clínica y emitió una indicación por escrito para recibir la vacuna polisacárida neumocócica no conjugada-PPV23 (PNEUMO 23,

Sanofi Pasteur, Lyon, Francia), además, proporcionó al familiar el número de contacto del investigador principal.

Seguidamente, el familiar del paciente contactó con el investigador y recibió la indicación de acercarse al Departamento de Inmunología del IICS, donde se realizó la primera toma de muestra sanguínea (pre-inmunización). Luego, los pacientes fueron remitidos para inmunización al vacunatorio del Instituto de Medicina Tropical o del Hospital General de Barrio Obrero, según disponibilidad de la PPV23 en estos vacunatorios, donde fueron inmunizados ya que contaban con la indicación expedida por el médico especialista. A continuación, se proporcionó al paciente la fecha de una segunda cita, cuatro semanas después de la inmunización con PPV23, en la cual acudieron al IICS para la segunda toma de muestra sanguínea (post-inmunización).

3.5 Evaluación de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo

3.5.1 Determinación de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización con la PPV23

Se midió la concentración sérica total de anticuerpos IgG anti-neumococo (mg/L) por el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA global), mediante un kit comercial que contiene un pool antigénico de 23 serotipos del neumococo pre-absorbidos a los pocillos (VaccZyme Anti-PCP IgG, del Grupo Binding Site Ltd., Birmingham, UK), en una muestra tomada antes de la inmunización del paciente con la PPV23 y siguiendo las instrucciones del fabricante del kit ELISA.

Los anticuerpos anti-neumococo post-inmunización fueron medidos con el mismo kit comercial en una muestra tomada 4 (cuatro) semanas después de la vacunación del paciente con la PPV23. De los 42 pacientes evaluados, 5 acudieron en la quinta semana post-inmunización y un paciente acudió en la sexta semana; de igual manera fueron evaluados, ya que los reportes internacionales establecen un periodo de 4 a 6 semanas para la toma de muestra post-inmunización (24,29,45).

Los calibradores proveídos en el kit fueron procesados una vez abierto el reactivo para realizar la curva de calibración. Los controles positivo y negativo,

también proveídos en el kit, fueron procesados en cada corrida del ELISA. Se realizó una nueva curva de calibración cada vez que los controles resultaron con valores próximos al límite inferior y/o superior de su rango normal.

Las muestras pre y post-inmunización de los pacientes fueron procesadas simultáneamente en la misma corrida de ELISA. Además, las muestras pre-inmunización con niveles séricos superiores al punto de corte utilizado en este estudio (110 mg/L), así como las muestras post-inmunización con niveles séricos inferiores a dicho punto de corte, fueron evaluadas nuevamente en una segunda corrida de ELISA; en todos los casos fueron corroborados los valores obtenidos en el primer análisis. Finalmente, se realizó la lectura de absorbancia del color desarrollado en cada pocillo de reacción, mediante un lector de tiras de ELISA (HumaReader Single, Human, Alemania)

3.5.2 Definición de respuesta adecuada y deficiente de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con PPV23

Una adecuada respuesta fue definida como niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización superiores a 110 mg/L. Este punto de corte fue reportado para población adulta con infecciones recurrentes, en un estudio donde evaluaron el valor clínico del ELISA global con relación al ELISA OMS (46), no se encontraron reportes de puntos de corte para población pediátrica, por tanto, valores post-inmunización con la PPV23 iguales o inferiores a 110 mg/L fueron considerados como respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo.

Para pacientes cuyos niveles pre-inmunización resultaron iguales o mayores a 110 mg/L, se consideró una respuesta deficiente, el incremento post-inmunización inferior a 2 (dos) veces respecto a los niveles pre-inmunización (29,50).

3.6 Estudio de los niveles séricos de inmunoglobulinas totales y de las subclases de inmunoglobulina G (IgG)

3.6.1 Determinación de la concentración en suero de IgA, IgG e IgM

Se determinó la concentración sérica total en mg/dL de cada inmunoglobulina (IgA, IgG e IgM) por el método de inmunodifusión radial (IDR), utilizando placas comerciales (Diffu-Plate, Biocientífica S.A, Buenos Aires, Argentina), y a partir de la primera muestra tomada previa inmunización del paciente con la PPV23.

Las placas de IDR fueron sembradas en sus pocillos con 5 µL de suero, luego se las incubó en una cámara húmeda a temperatura ambiente durante 48 horas. Posteriormente, se midieron los anillos (o halos) de precipitación formados alrededor de los pocillos con una lupa milimétrica, dichos diámetros (en mm) se correspondieron con valores de concentración (en mg/dL) en tablas suministradas por el fabricante de las placas. Se utilizaron como valores de referencia los intervalos o rangos, según edad, establecidos por el fabricante de las placas de IDR (Anexo 2), considerando como hipogammaglobulinemia cuando el resultado fue menor al límite inferior del rango de referencia para la edad.

Cada muestra que arrojó valores de inmunoglobulina total (IgA, IgG y/o IgM) por debajo del rango de referencia para la edad del paciente (hipogammaglobulinemia), fue sembrada nuevamente en otro pocillo de la placa respectiva; en todos los casos fueron verificados los valores obtenidos en el primer análisis de la muestra.

3.6.2 Determinación de la concentración en suero de las subclases de IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4

Cada una de las subclases de IgG fue medida por el método de IDR, mediante placas comerciales (Human IgG Subclass Combi Kit, Grupo Binding Site Ltd., Birmingham, UK), en los pacientes que presentaron respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo y/o hipogammaglobulinemia de al menos un isotipo. Debido a la limitación en la cantidad de reactivo disponible, se seleccionó a estos pacientes para ajustarse al criterio diagnóstico de SAD (11), y también, para detectar una deficiencia de subclases que puede presentarse combinada con una deficiencia de IgA (12) o con una respuesta anti-neumococo deficiente (25,57), además, la deficiencia de IgG1 puede presentarse con niveles séricos disminuidos de IgG total (11).

Se emplearon las primeras muestras tomadas previa inmunización de los pacientes, las que fueron almacenadas a -20°C y descongeladas para el análisis. Se utilizó una placa de IDR para cada subclase de IgG, la cual fue sembrada en sus pocillos con $5\ \mu\text{L}$ de suero previamente diluido para IgG1 e IgG2, en diluciones 1/10 para las muestras con IgG sérica normal y 1/5 para las muestras con IgG disminuida, y para el caso de IgG3 e IgG 4 se sembraron sueros sin diluir. Cada placa fue luego incubada en cámara húmeda por 72 horas, para posteriormente realizar la lectura del halo de precipitación con lupa milimétrica, cuyo diámetro (en mm) se correspondió con una concentración (mg/L) proveída en tablas por el fabricante. Se utilizaron como valores de referencia los intervalos o rangos, según edad, establecidos por el fabricante de las placas para cada una de las subclases de IgG (Anexo 2).

3.7 Definición de deficiencias de anticuerpos según criterios diagnósticos internacionales

3.7.1 Definición de la deficiencia de anticuerpos específicos (SAD)

Se estableció la presencia de una deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) en pacientes que presentaron una respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo (niveles séricos de anticuerpos post-inmunización $\leq 110\ \text{mg/L}$ o incremento post-inmunización inferior a dos veces con respecto a los niveles pre-inmunización), con niveles séricos normales de IgA, IgG e IgM y de subclases de IgG (11,12,15).

3.7.2 Definición de otras deficiencias de anticuerpos

Se consideró las definiciones de otras deficiencias de anticuerpos como: inmunodeficiencia común variable (CVID), deficiencia de IgA (DIgA), deficiencia de subclases de IgG y deficiencia aislada de IgG (DIgG), utilizando los criterios diagnósticos establecidos por la Academia Americana de Alergia, Asma e Inmunología-AAAAI (11) y también se tuvieron en cuenta los algoritmos de diagnóstico fenotípico clínico-inmunológico reportados por la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología-IUIS (12,15).

3.7.2.1 Inmunodeficiencia común variable (CVID)

Se definió la presencia de CVID en pacientes (mayores a 4 años de edad) con infecciones crónicas y recurrentes del tracto respiratorio como las más frecuentes, niveles séricos disminuidos de IgG e IgA, con IgM normal o disminuida y respuesta deficiente a vacunas (11).

3.7.2.2 Deficiencia de inmunoglobulina A (DIgA)

Se estableció la presencia de esta deficiencia, en pacientes mayores de 4 años de edad, con niveles séricos de IgA inferiores a 7 mg/dL y concentraciones séricas normales de IgG, IgM y subclases de IgG (11). Se consideró una deficiencia parcial cuando los niveles séricos fueron superiores a 7 mg/dL pero inferiores al rango normal para la edad, y, una deficiencia transitoria en niños menores de 4 años (65).

3.7.2.3 Deficiencia de subclases de inmunoglobulina G (IgG)

Se definió a la deficiencia de subclases de IgG, en pacientes con infecciones recurrentes, como la presencia de niveles séricos de IgG1, IgG2, IgG3 y/o IgG4 por debajo del rango considerado normal para la edad, y concentraciones séricas de IgA, IgG e IgM normales (11). También se consideró que una deficiencia de subclases puede presentarse combinada con DIgA (15), y además, en esta deficiencia puede observarse una respuesta alterada a polisacáridos del neumococo (57).

3.7.2.4 Deficiencia aislada de inmunoglobulina G (DIgG)

Fue definida como niveles séricos de IgG por debajo del rango considerado normal, con IgA e IgM normales. Según la AAAAI, una deficiencia aislada de IgG en pacientes con infecciones recurrentes, así como otra hipogammaglobulinemia que no reúna los criterios de las deficiencias ya citadas, pueden ser clasificadas como hipogammaglobulinemias no especificadas. Si el niño es menor de 5 años de edad, puede clasificarse como una hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia (11).

3.8 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según edad y estado previo de vacunación neumocócica conjugada (PCV)

Para evaluar si la edad y el estado previo de inmunización con PCV podrían influir sobre la respuesta de anticuerpos anti-neumococo en la población de estudio, se estratificó a la población pediátrica según tres características: la edad, las dosis previas de PCV recibidas por los pacientes como parte de sus esquemas de vacunación y el tiempo transcurrido (en meses) desde la última dosis de PCV hasta el momento de su participación en este estudio.

Los grupos etarios fueron: 2 - 3 años (n=12), 4 - 5 años (n=13), 6 - 8 años (n=9) y mayor a 8 años (n=8). La estratificación según dosis previas de PCV fue la siguiente: ninguna dosis (n=8), 2 dosis (n=5) y 3 o más dosis (n=29); y la división según el tiempo transcurrido desde la última dosis de PCV, en este caso considerando a los 34 pacientes que contaban con PCV en sus esquemas de vacunación, fue: menos de 36 meses (n=13), entre 36 y 60 meses (n=12), más de 60 meses (n=9). Se describió la distribución y se evaluó diferencias de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo, pre-inmunización y post-inmunización con PPV23, entre los diferentes grupos.

3.9 Consideraciones éticas

Se proporcionó un material informativo al responsable del menor (padre, madre o tutor) incluyendo el propósito, alcance, riesgos y beneficios del estudio (Anexo 3), lo cual también fue explicado verbalmente. La participación fue voluntaria y autorizada mediante la firma de un consentimiento informado (Anexo 4). Se resguardó la confidencialidad de los datos, utilizando códigos en los cuestionarios y en las muestras de los pacientes.

Las pruebas de laboratorio realizadas y la inmunización con PPV23 fueron gratuitas; los resultados fueron entregados en un plazo no mayor de 6 semanas. Dichas pruebas ofrecieron la posibilidad de descartar o establecer el diagnóstico de una deficiencia de anticuerpos, lo que permitió el inicio de un tratamiento que mejoraría la condición del paciente, en los casos que un diagnóstico fue establecido. Para controlar

y minimizar los leves efectos secundarios de la inmunización, los médicos especialistas indicaron al familiar del paciente sobre las medidas necesarias en caso de que aparecieran. Si bien la inmunización correspondió a un procedimiento para diagnóstico, también le brindó al paciente protección frente a un microorganismo (neumococo) común en infecciones de población pediátrica.

En este estudio se utilizaron criterios diagnósticos internacionales para definir la presencia de SAD y de otras deficiencias de anticuerpos, no obstante, el establecimiento de un diagnóstico final en el paciente estuvo a cargo de un médico especialista en IDPs (IMT – MSPyBS), con quien fue derivado cada paciente; también estuvo a su cargo la prescripción de un tratamiento según su criterio, al cual los pacientes pudieron acceder de forma gratuita en dicho hospital.

El protocolo de trabajo de este estudio fue evaluado y aprobado por los Comités Científico y de Ética en la Investigación del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud - UNA (Código de aprobación: P08/2019).

3.10 Asuntos estadísticos

Los datos recolectados fueron asentados en una planilla de Excel versión 8.0 y analizados con el programa estadístico SPSS (IBM Corp.), versión 21 para Windows. Para las variables categóricas, incluyendo la variable principal del estudio que fue la presencia de SAD en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes, se utilizaron frecuencias absolutas (n) y porcentajes (%). A todas las variables cuantitativas se les aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, resultando para todos los casos $p < 0,05$ (distribución asimétrica), por tanto, se empleó medianas y rangos intercuartílicos (RIQ) para describir dichas variables.

Se evaluó diferencias entre los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras relacionadas ($\alpha < 0,05$), y para examinar diferencias en la distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo (pre-inmunización y post-inmunización) según edad y estado previo de vacunación con PCV, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($\alpha < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Caracterización de la población pediátrica con infecciones recurrentes

4.1.1 Caracterización demográfica

En este estudio fueron evaluados 42 pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. Para la edad se observó una mediana de 5 años con rango intercuartílico (RIQ) de 3 a 8 años y un rango total de 2 a 17 años. Se encontró un leve predominio del sexo masculino (22/42; 52,4%) y la mayoría de los pacientes tenía como procedencia el Departamento Central (22/42; 52,4%). Con respecto a la situación educativa, 26/42 (61,9%) pacientes asistían a instituciones educativas por su edad, de los cuales una proporción 10/26 (38,5%) asistía de forma irregular (ausencias frecuentes) por las infecciones recurrentes y una paciente abandonó sus estudios por el mismo motivo. La caracterización demográfica de los pacientes pediátricos con infecciones recurrentes se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Características demográficas de la población pediátrica con infecciones recurrentes. (n=42)

Característica	Frecuencia	%
Sexo		
Femenino	20	47,6
Masculino	22	52,4
Procedencia		
Asunción	7	16,7
Departamento Central	22	52,4
Interior del país	13	30,9
Situación educativa (n=26)*		
Asiste normalmente	15	57,7
Asiste de forma irregular por IR	10	38,5
Abandono por IR	1	3,8

Frecuencia: número de pacientes con la característica; %: porcentaje de pacientes con la característica en relación al total; IR: infecciones recurrentes; *: número de pacientes en edad de asistir a instituciones educativas.

4.1.2 Caracterización clínica

Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron las infecciones recurrentes (≥ 2 episodios por año) del tracto respiratorio superior e inferior. Se observó también manifestación clínica severa en al menos una ocasión, predominando la sepsis y la neumonía grave, además, fue muy frecuente el uso de antibióticos intravenosos y la necesidad de hospitalización para aliviar las infecciones. Las alergias fueron observadas en la mayoría de los pacientes, principalmente el asma y la rinitis alérgica, en cambio, la presencia de enfermedad autoinmune se encontró solo en tres pacientes. Los antecedentes familiares más frecuentes fueron la presencia de un familiar (padre, madre y/o hermano/a) con alergia y la de un hermano/a con infecciones recurrentes. La mayoría de los pacientes tenía solo a la enfermedad alérgica como diagnóstico presuntivo o confirmado al momento de participar del estudio, y una proporción importante se encontraba recibiendo tratamiento antialérgico. La caracterización clínica de los pacientes pediátricos con infecciones recurrentes se presenta en la Tabla 2.

La aplicación del cuestionario de investigación también permitió indagar sobre otras características clínicas como: la edad de inicio de las infecciones recurrentes (en años), el número de infecciones por año, el número de hospitalizaciones en el último año y los días de estadía hospitalaria, observándose que las medianas y los rangos intercuartílicos (RIQ) para cada una de estas características fueron, respectivamente: 2 (RIQ: 1 – 4), 3 (RIQ: 2 – 5), 1 (RIQ: 1 – 2), 7 (RIQ: 7 – 14).

Tabla 2. Características clínicas de pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. (n=42)

Característica	Frecuencia	%
Manifestación clínica ≥ 2 episodios por año		
ITRS (amigdalitis, faringitis y/o laringitis)	30	71,4
ITRI (bronquitis y/o neumonía)	26	61,9
Adenopatías (inflamación y/o infección de ganglios)	12	28,6
Fiebre sin etiología determinada	11	26,2
Infecciones cutáneas	8	19,0
Infección de oídos (otitis)	7	16,7
Sinusitis	7	16,7
Infección gastrointestinal	5	11,9
Manifestación clínica severa en al menos una ocasión		
Sepsis	9	21,4
Neumonía grave (con derrame pleural, absceso y/o necrosis)	6	14,3
Abscesos de órganos, meningitis y/o candidiasis	4	9,5
Antibióticos intravenosos (\geq una ocasión en el último año)	38	90,5
Hospitalización (\geq una ocasión en el último año)	39	92,9
Ingreso a unidad de cuidados intensivos (UCI)	11	26,2
Presencia de enfermedad alérgica y/o autoinmune		
Asma	12	28,6
Rinitis alérgica	12	28,6
Asma y RA	5	11,9
DA con/sin APLV	4	9,5
Enfermedad celiaca y/o PTI	3	7,1
Antecedentes familiares		
Familiar (padre, madre y/o hermano/a) con alergia	14	33,3
Hermano/a con IR	9	21,4
Muerte infantil temprana en la familia	3	7,1
Caso de IDP en la familia	2	4,8
Diagnóstico y/o tratamiento al momento del estudio		
Alergia	23	54,8
Enfermedad autoinmune	3	7,1
Probable hipogammaglobulinemia	2	4,8
Tratamiento con antialérgicos	22	52,4
Tratamiento con antibióticos	5	11,9

Frecuencia: número de pacientes con la característica; %: porcentaje de pacientes con la característica en relación al total; ITRS: infecciones del tracto respiratorio superior; ITRI: infecciones del tracto respiratorio inferior; RA: rinitis alérgica; DA: dermatitis atópica; APLV: alergia a las proteínas de la leche de vaca; PTI: púrpura trompocitopénica idiopática; IR: infecciones recurrentes; IDP: inmunodeficiencia primaria.

4.2 Evaluación de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo

4.2.1 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización con la PPV23

El rango total para los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización fue de 2,3 a 168,7 mg/L, observándose una mediana de 40,5 mg/L (Tabla 3). 14/42 (33,3%) pacientes presentaron niveles séricos entre 2,3 y 25,4 mg/L, inferiores a 27,5 mg/L, valor reportado previamente como nivel protectorio por el ensayo de ELISA global (34). 12/14 pacientes contaban con dos a tres dosis de PCV en sus esquemas de vacunación, y las otras dos pacientes (de 10 y 17 años de edad) no contaban con la PCV, ya que esta vacuna se introdujo en Paraguay en el año 2012. 4/14 pacientes (2, 4, 8 y 17 años de edad) presentaron valores muy bajos entre 2,3 y 9,4 mg/L, solo la paciente de 17 años no contaba con la PCV (Anexo 5).

Por otra parte, en 3/42 pacientes se observaron niveles de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización superiores al valor de corte (110 mg/L), cuyas concentraciones estuvieron en el rango de 160,4 a 168,7 mg/L. Estos pacientes tenían 8, 13 y 16 años de edad, y solo la paciente de 8 años contaba con la PCV, pero ya habían transcurrido más de 5 años desde su última dosis (Anexo 5).

4.2.2 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con la PPV23

Para los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización se observó una mediana de 285,4 mg/L con RIQ de 236,9 a 351,7 mg/L, mientras que el incremento post/pre-inmunización varió desde 1,5 hasta 77,1 (Tabla 3). 39/42 (92,8%) pacientes respondieron adecuadamente a la vacuna, es decir, presentaron niveles séricos de anticuerpos superiores a 110 mg/L post-inmunización con PPV23, o bien, un incremento post/pre-inmunización ≥ 2 (dos) para aquellos con niveles séricos pre-inmunización mayores a 110 mg/L.

En 3/42 (7,1%) pacientes se observó una respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con la PPV23. En 2 de estos pacientes (ambas del sexo femenino, de 7 y 17 años de edad) se observaron valores inferiores al punto de

corte de 110 mg/L (37,7 mg/L y 53,5 mg/L, respectivamente). En el tercer paciente (masculino, 13 años de edad), cuyo nivel pre-inmunización fue 160,4 mg/L (>110 mg/L), se observó un nivel sérico post-inmunización de 247,1 mg/L, lo cual equivale a un incremento post/pre-inmunización de 1,5 (Anexo 5).

Con respecto a los 14/42 pacientes ya mencionados, con niveles séricos de anticuerpos pre-inmunización inferiores a 27,5 mg/L, 13/14 pacientes presentaron incrementos post-inmunización superiores a 110 mg/L, solo en una paciente de este grupo se observó una respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo (37,7 mg/L para su nivel post-inmunización). Y con relación a los 3/42 pacientes con niveles séricos de anticuerpos pre-inmunización >110 mg/L, solo en un paciente se observó una respuesta anti-neumococo deficiente (incremento post/pre-inmunización: 1,5).

Tabla 3. Respuesta de anticuerpos anti-neumococo en la población pediátrica con infecciones recurrentes. (n=42)

Determinación	Mediana	RIQ	Rango total
Anti-neumococo pre-inmunización*	40,5	20,9 - 73,2	2,3 - 168,7
Anti-neumococo post-inmunización*	285,4	236,9 - 351,7	37,7 - 459,3
Incremento post/pre-inmunización	6,4	4,8 - 12,6	1,5 - 77,1
Semanas (días) post-inmunización	4 (28)	4-5 (28-30)	4-6 (25-39)

*: niveles séricos de anticuerpos en mg/L (miligramos por litro); RIQ: rango intercuartílico

Al evaluar diferencias entre los niveles séricos de anticuerpos pre y post-inmunización en la población pediátrica con infecciones recurrentes, se observó un incremento altamente significativo ($p < 0,001$) de los niveles de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con la PPV23 (Figura 2)

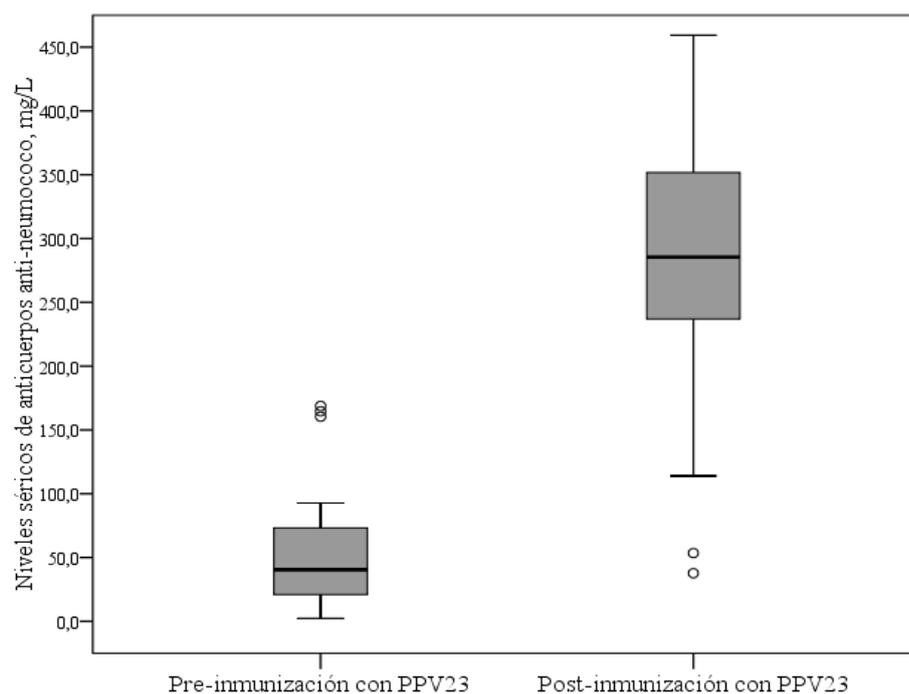


Figura 2. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según el estado de inmunización con PPV23 (n=42). Se observó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,001$; prueba de Wilcoxon) de los niveles de anticuerpos post-inmunización con respecto a los niveles pre-inmunización, a excepción de dos pacientes cuyos valores post-inmunización (puntos por debajo de la “caja”) fueron < 110 mg/L. También se observó a tres pacientes con niveles pre-inmunización > 110 mg/L (puntos por encima de la “caja”). La línea central de las “cajas” corresponde a la mediana y sus extremos representan al RIQ ($P_{25} - P_{75}$)

4.2.3 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según la edad

Para los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización se observó una discreta tendencia de aumento de las medianas con la edad (Figura 3). Las medianas con sus respectivos RIQ para los diferentes grupos etarios, de izquierda a derecha en la figura citada, fueron: 30,5 mg/L (19,1 - 43,2); 49,3 mg/L (17,5 - 57,6); 49,9 mg/L (27,6 - 77,1) y 66,0 mg/L (29,3 - 124,3). Se observó una importante variación en los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo en cada grupo etario, además, el número de individuos fue muy reducido en cada grupo y la diferencia

observada no fue estadísticamente significativa ($p=0,314$).

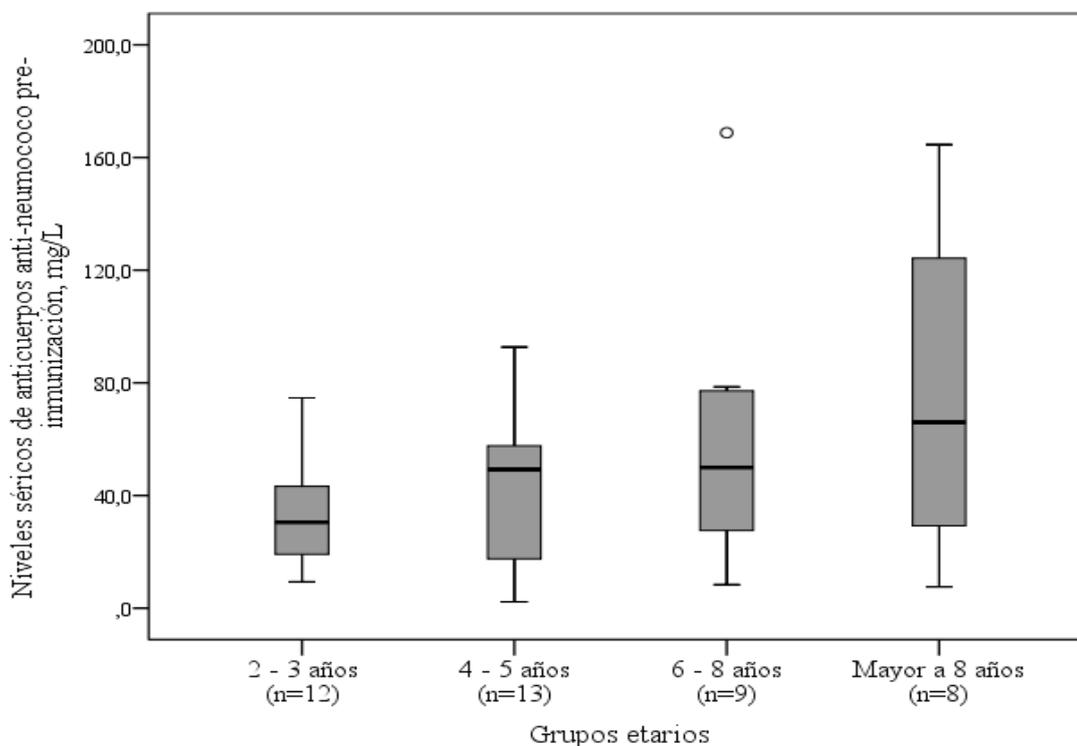


Figura 3. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización con PPV23 según grupos etarios (n=42). Se observó una discreta tendencia de incremento de las medianas según aumentó la edad en los grupos etarios, sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p=0,314$; prueba de Kruskal-Wallis). La línea central de las “cajas” corresponde a la mediana y sus extremos al RIQ (P₂₅ - P₇₅).

Para los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización también se observó una discreta tendencia de aumento de las medianas desde el grupo etario de 2 – 3 años hasta el grupo de 6 - 8 años, y luego una disminución de la mediana para los mayores de 8 años (Figura 4), así, las medianas con sus respectivos RIQ para los diferentes grupos etarios, de izquierda a derecha en la figura citada, fueron: 276,4 mg/L (240,4 - 311,3); 315,1 mg/L (258,6 - 340,9); 348,2 mg/L (224,8 - 412,7) y 308,9 mg/L (180,5 – 377,5). La variación en los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo en cada grupo etario fue pronunciada, así como el número de individuos

en cada grupo fue reducido, y la diferencia observada no fue estadísticamente significativa ($p=0,829$).

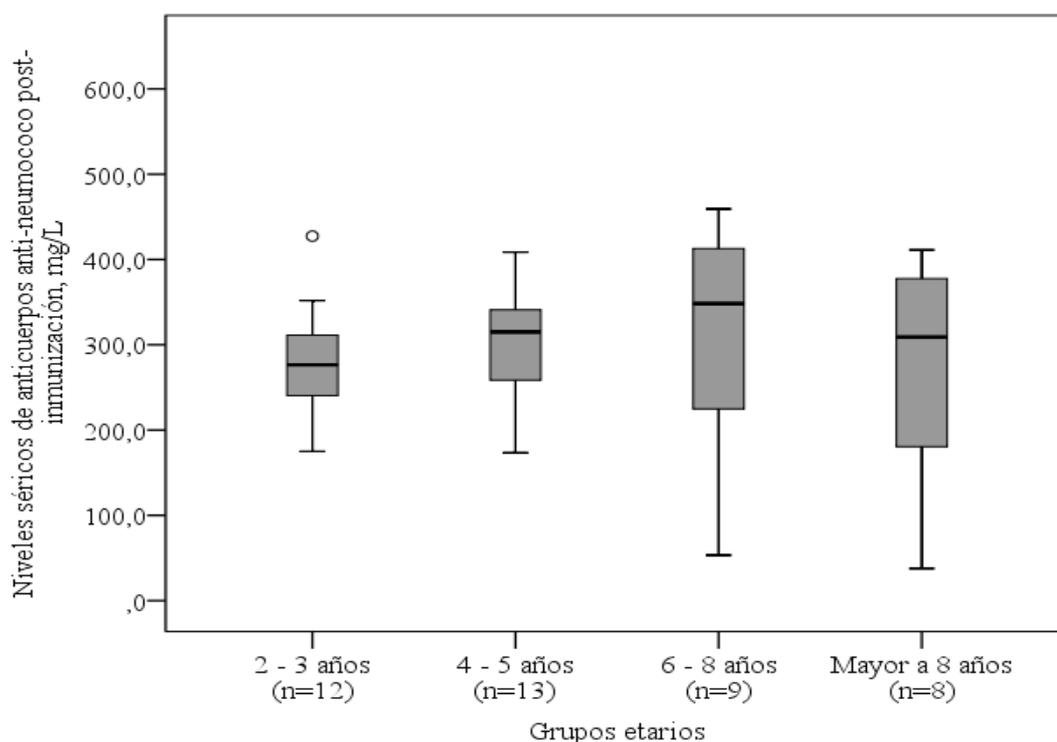


Figura 4. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con PPV23 según grupos etarios (n=42). Se observó una discreta tendencia de incremento de las medianas según aumentó la edad hasta el grupo etario de 6 – 8 años, y luego una disminución para mayores de 8 años, sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p=0,829$; prueba de Kruskal-Wallis). La línea central de las “cajas” corresponde a la mediana y sus extremos representan al RIQ (P₂₅ - P₇₅).

4.3 Estudio de inmunoglobulinas séricas totales y de las subclases de IgG

4.3.1 Niveles séricos de inmunoglobulinas totales IgA, IgG e IgM

En este estudio se midieron los niveles séricos de inmunoglobulinas totales IgA, IgG e IgM por el método de inmunodifusión radial. Los estadísticos de tendencia central (mediana) y de dispersión (RIQ y rango total) para cada una de estas inmunoglobulinas se presentan en la Tabla 4. Los valores observados para la mediana

y el RIQ de cada inmunoglobulina pueden considerarse dentro del rango normal o de referencia (Anexo 2), lo cual se corresponde con la frecuencia de pacientes que tuvieron niveles séricos normales de estos anticuerpos (34/42; 81,0%), no obstante, en el rango total para las inmunoglobulinas IgA e IgG se puede notar la presencia de valores disminuidos para estos anticuerpos, lo que correspondería a pacientes con hipogammaglobulinemia.

Tabla 4. Niveles séricos de inmunoglobulinas totales en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes. (n=42)

Determinación	Mediana	RIQ	Rango total
Inmunoglobulina A (IgA), mg/dL	85,9	40,9 – 130,3	8,6 – 329,6
Inmunoglobulina G (IgG), mg/dL	861,7	686,5 – 950,1	192,3 – 1553,1
Inmunoglobulina M (IgM), mg/dL	132,7	104,0 – 173,7	47,4 – 331,5

Ig: inmunoglobulina; mg/dL: miligramos por decilitro; RIQ: rango intercuartílico; mg/L: miligramos por litro.

4.3.2 Niveles séricos de subclases de IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4

Se midieron los niveles séricos de las cuatro subclases de IgG en las muestras de 10 pacientes que presentaron una respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo y/o una hipogammaglobulinemia de al menos un isotipo (IgA, IgG y/o IgM). Una proporción 7/10 (70,0%) pacientes presentaron niveles séricos dentro del rango considerado normal o de referencia para la IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 (Anexo 2).

Para la subclase IgG1 los niveles séricos resultaron entre 1538 mg/L y 15500 mg/L, encontrándose valores por debajo del rango normal en dos pacientes. Los niveles séricos de la IgG2 oscilaron desde 338 mg/L hasta 5040 mg/L, solo una paciente presentó un valor disminuido de esta subclase. La concentración sérica de la IgG3 osciló entre 53,7 mg/L y 677 mg/L, encontrándose que dos pacientes presentaron niveles séricos disminuidos, y para los niveles séricos de la IgG4, el rango observado fue desde valores indetectables (inferior a 22,4 mg/L) hasta 815 mg/L, observándose valores por debajo del rango normal en dos pacientes (Tabla 5).

Tabla 5. Niveles séricos de subclases de IgG en pacientes pediátricos con respuesta anti-neumococo deficiente y/o con hipogammaglobulinemia. (n=10)

N°	Edad*	Sexo	IgG1 (mg/L)	IgG2 (mg/L)	IgG3 (mg/L)	IgG4 (mg/L)
2	4	M	10700	2280	285	128
4	17	F	7690	5040	677	119
5	7	F	5350	1890	70,9	<22,4
8	11	F	6360	2930	421	305
15	4	M	6150	960	222	146
17	13	M	15500	3630	397	815
21	2	F	4860	790	421	50,5
27	8	F	2680	1745	421	44,3
32	5	M	4410	2106	397	22,4
42	2	F	1538	338	53,7	<22,4

N°: número de identificación del paciente; *: en años; M: masculino; F: femenino; mg/L: miligramos por litro. Los valores que resultaron por debajo del rango de referencia se presentan en negrita.

4.4 Casos identificados de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) y de otras deficiencias de anticuerpos.

4.4.1 Detección de SAD y determinación de su frecuencia

El estudio de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo en los 42 pacientes pediátricos con infecciones recurrentes permitió detectar 3 (tres) casos, ya descritos con anterioridad, con una respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con la PPV23. Los dos primeros casos corresponden a los dos puntos situados por debajo de la “caja” en la Figura 2 ya mencionada. Estas dos pacientes, identificadas como N°4 y 5 del estudio, presentaron niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización inferiores a 110 mg/L, y el tercer paciente, identificado como N°17 de este estudio, presentó un incremento de anticuerpos anti-neumococo post/pre-inmunización de 1,5 (inferior a dos).

Según las definiciones utilizadas en este estudio para las deficiencias de anticuerpos, el fenotipo clínico-inmunológico para una de las pacientes (N°5) con respuesta anti-neumococo deficiente fue compatible con una CVID, ya que presentó

niveles séricos disminuidos de IgA e IgG. En los otros dos pacientes (N°4 y 17) con respuesta anti-neumococo deficiente, se estableció la presencia de SAD, ya que presentaron niveles séricos normales de IgA, IgG e IgM y de las cuatro subclases de IgG. Así, la frecuencia observada de SAD en este estudio fue de 4,8% (2/42).

4.4.2 Detección de otras deficiencias de anticuerpos y determinación de sus frecuencias

Además de los 2 casos de SAD, se detectaron otras deficiencias de anticuerpos como: un caso de CVID (1/42; 2,4%) ya mencionado en la paciente N°5, 3 casos (3/42; 7,1%) de deficiencia de IgA (DIgA) en los pacientes N°2, 8 y 21, y 4 casos (4/42; 9,5%) de deficiencia aislada de IgG (DIgG) en los pacientes N°15, 27, 32 y 42. La frecuencia total observada de deficiencias predominantes de anticuerpos detectadas en este estudio fue de 23,8% (10/42).

En tres pacientes se observó niveles séricos disminuidos de al menos una subclase de IgG; la paciente con CVID (N°5) presentó niveles disminuidos de IgG3 e IgG4, y, en las pacientes N°27 y 42 con DIgG se encontró niveles séricos disminuidos de IgG1 y de las cuatro subclases, respectivamente. La deficiencia de subclases de IgG no fue detectada en este estudio, ya que los tres pacientes mencionados no reunieron el criterio de IgG sérica normal.

Los 4 casos detectados de DIgG, con y sin niveles disminuidos de las subclases, pueden clasificarse como hipogammaglobulinemias no especificadas. Además, en los pacientes N°15 y 42 (menores de 5 años de edad), la DIgG observada podría corresponder a una hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia.

4.5 Caracterización de pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio

En la caracterización demográfica de los 10 pacientes con deficiencias de anticuerpos se observó una proporción 6/10 (60,0%) de pacientes del sexo femenino, la mediana de edad fue de 6 años (RIQ: 4 – 11 años) y la mayoría de los pacientes (8/10; 80,0%) eran de Asunción o del Departamento Central; de los 6 pacientes que

asistían a instituciones educativas, 3 refirieron asistencia irregular (ausencias frecuentes) por las infecciones recurrentes y una paciente abandonó sus estudios por dicho motivo. En la Tabla 6 se presentan los datos de edad y sexo, así como el fenotipo inmunológico de los 10 pacientes con deficiencias de anticuerpos.

Tabla 6. Características demográficas y fenotipo inmunológico de pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas. (n=10)

N°	Edad	Sexo	IgA (mg/dL)	IgG (mg/dL)	IgM (mg/dL)	Anti- neumo*	Anti- neumo**	Subclases de IgG	DPA
2	4	M	16,9	841,8	159,7	88,1	340,9	Normal	DIgA
4	17	F	203,4	881,5	213,5	7,6	37,7	Normal	SAD
5	7	F	8,6	316,2	47,4	28,9	53,5	IgG3↓IgG4↓	<u>CVID</u> §
8	11	F	58,4	789,1	90,4	88,1	276,2	Normal	DIgA
15	4	M	107,2	540,3	96,2	17,5	213,3	Normal	DIgG
17	13	M	111	1238,3	141	160,4	247,1 †	Normal	SAD
21	2	F	16,3	524,5	103	44,3	261,5	Normal	DIgA
27	8	F	94,2	430,6	228,5	168,8	348,2	IgG1↓	DIgG§
32	5	M	86	524,5	109,1	55,4	394,6	Normal	DIgG
42	2	F	27,3	192,3	59,3	20,9	427,3	Todas↓	DIgG§

*: anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización en mg/L; **: anticuerpos anti-neumococo post-inmunización en mg/L; DPA: deficiencia predominante de anticuerpo; DIgA: deficiencia de IgA; CVID: inmunodeficiencia común variable con respuesta anti-neumococo deficiente; SAD: deficiencia de anticuerpos específicos; DIgG: deficiencia aislada de IgG; †: incremento post/pre-inmunización=1,5; ↓: con niveles séricos disminuidos; §: presencia de niveles séricos disminuidos de subclases de IgG. En negrita, los valores de anticuerpos con niveles séricos disminuidos o con respuesta deficiente.

En la caracterización clínica se observó un predominio (7/10; 70,0%) de infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior (amigdalitis, faringitis y/o laringitis) e inferior (bronquitis y/o neumonía), también fue frecuente la infección severa (7/10; 70,0%) como sepsis y neumonía grave (con derrame pleural, absceso y/o con necrosis). Las alergias predominantes fueron asma y rinitis, mientras que, los antecedentes familiares fueron mayoritariamente la presencia de familiar (padre/madre y/o hermano/a) alérgico y de hermano/a con infecciones recurrentes (Tabla 7). La mediana para la edad de inicio de las infecciones recurrentes fue de 2 años (RIQ: 1 – 7 años); para el número de infecciones por año y el número de hospitalizaciones en el último año, las medianas fueron, respectivamente, 3 (RIQ: 2 – 4) y 2 (RIQ: 1 – 3).

En los pacientes definidos como casos de SAD en este estudio (N°4 y 17), las infecciones recurrentes más frecuentes fueron los abscesos y las adenopatías, respectivamente, diferente a lo observado en los demás pacientes con DPA. No obstante, la paciente N°4 refirió la presencia de otras infecciones recurrentes como las del tracto respiratorio superior, sinusitis, adenopatías y fiebre sin etiología determinada, y en el paciente N° 17, también se observó infecciones del tracto respiratorio superior, fiebre sin etiología determinada y gastroenteritis. En ambos pacientes se observó infección severa como sepsis y presencia de alergia.

Tabla 7. Características clínicas de los pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio. (n=10)

N°	Infección Recurrente	Edad*	Infec. /año	Hosp. /año	Infección Severa	Alergia	Antecedente Familiar	DPA
2	TRS	4	2	1	Sepsis	RA	Familiar alérgico	DIgA
4	Abscesos	7	10	4	Sepsis	RA	Herno/a. con IR	SAD
5	Neumonía	2	5	5	Sepsis	Asma	Muerte infantil	<u>CVID</u> §
8	TRS	9	3	1	Candidiasis	AA	Familiar alérgico	DIgA
15	Bronquitis	6m	2	1	Ninguna	Asma/RA	Ninguno	DIgG
17	Adenopatías	10	4	1	Sepsis	RA	Herno/a. con IR	SAD
21	TRS	6m	4	1	Ninguna	DA/APLV	Familiar alérgico	DIgA
27	Neumonía	2	3	3	Neumonía**	Asma	Herno/a. IR	DIgG [§]
32	Otitis	1	3	2	Ninguna	RA	Herno/a. con IR	DIgG
42	Neumonía	2	2	2	Neumonía**	DA/APLV	Familiar alérgico	DIgG [§]

TRS: tracto respiratorio superior; *: edad de inicio de infecciones (años); m: meses; Infec./año: número de infecciones por año; Hospit./año: número de hospitalizaciones en el último año; **: grave (con derrame pleural, absceso y/o con necrosis); RA: rinitis alérgica; AA: alergia a alimentos; DA: dermatitis atópica; APLV: alergia a las proteínas de la leche de vaca; Herno/a.: hermano/a; IR: infección recurrente.

4.6 Caracterización de pacientes pediátricos con infecciones recurrentes en cuanto a su estado previo de inmunización con PCV

4.6.1 Descripción del número de dosis y tiempo transcurrido desde la última dosis de PCV

La PCV forma parte del esquema de vacunación de los niños menores de 2 años en Paraguay, contemplando un total de 3 (tres) dosis: a los 2 y 4 meses, y la tercera dosis, a los un año de edad (42). En este estudio se observó que 8 pacientes no habían recibido dosis de PCV; estos pacientes tenían 10 años o más de edad y

considerando el año de introducción (2012) de la PCV en Paraguay por el PAI-MSPyBS, sus esquemas de vacunación aún no incluían esta vacuna. Por otra parte, solo en 2 pacientes se observó 4 dosis de PCV cuyos esquemas de vacunación fueron completados en centros médicos privados, mientras que, 5/42 (11,9%) contaban con 2 dosis y 27/42 (64,3%) tuvieron las 3 dosis de PCV, todos ellos (32/42; 76,2%) fueron vacunados en servicios del MSPyBS (según sus tarjetas de vacunación).

Con respecto al tiempo transcurrido (en meses) desde la última dosis de PCV hasta el momento de participación del paciente en este estudio, y considerando a los 34 pacientes que contaban con la PCV en sus esquemas de vacunación, la variación observada fue de 10 a 91 meses, con una mediana de 44 meses y RIQ de 24 a 62.

4.6.2 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según dosis de PCV y tiempo transcurrido desde la última dosis.

En la Figura 5 se presenta la distribución de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según dosis de PCV, y en la Figura 6, los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según tiempo transcurrido desde la última dosis. Se observó una importante variación de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo, pre-inmunización y post-inmunización, en cada uno de los grupos según dosis de PCV y según tiempo transcurrido desde la última dosis, además, el número de individuos fue muy reducido en cada grupo y las diferencias observadas en las medianas no fueron estadísticamente significativas.

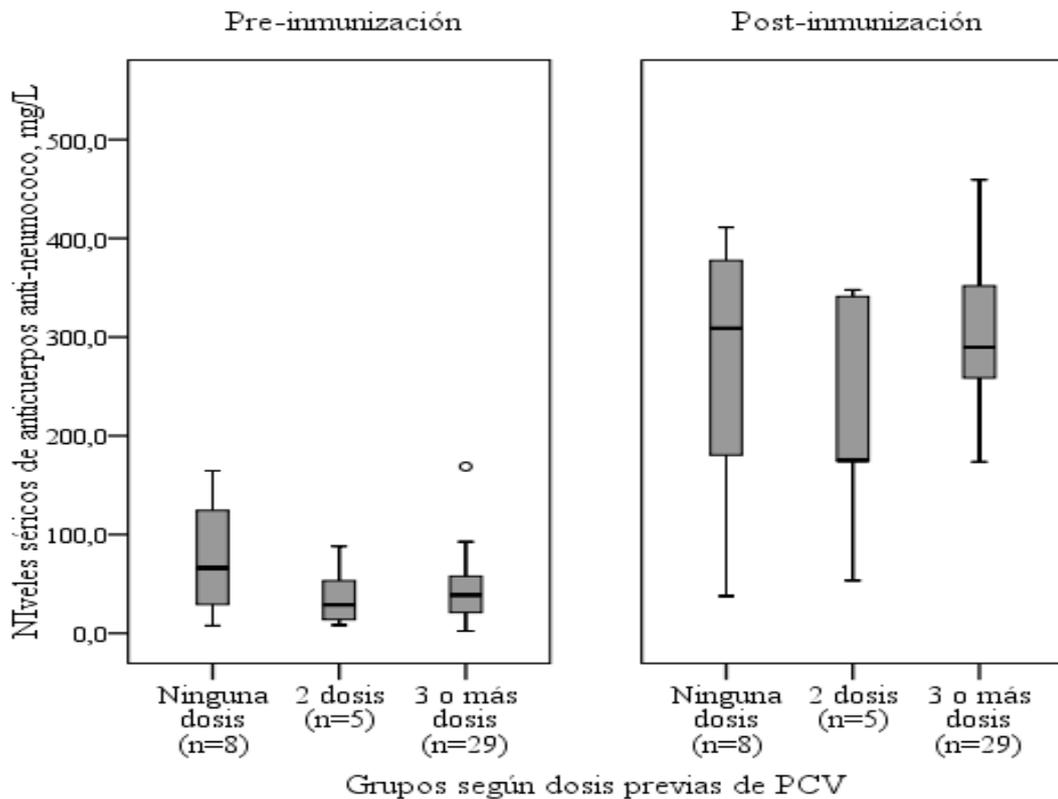


Figura 5. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según dosis de PCV (n=42). No se observaron diferencias significativas entre los niveles pre-inmunización de anticuerpos anti-neumococo ($p=0,381$; prueba de Kruskal-Wallis), tampoco hubo diferencias significativas entre los niveles post-inmunización ($p=0,344$; prueba de Kruskal-Wallis), según dosis previas de PCV. La línea central de las “cajas” corresponde a la mediana y sus extremos representan al RIQ ($P_{25} - P_{75}$).

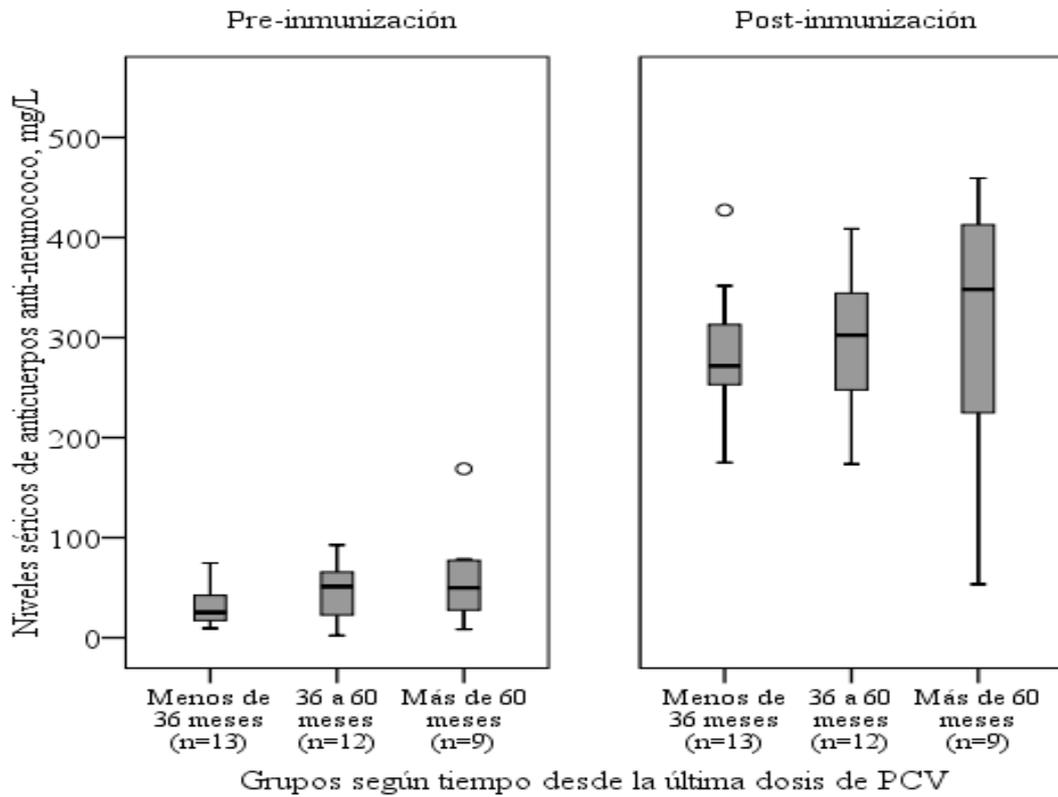


Figura 6. Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización según tiempo transcurrido desde la última dosis de PCV (n=34). No se observaron diferencias significativas entre niveles pre-inmunización ($p=0,187$; prueba de Kruskal-Wallis), ni entre los niveles post-inmunización ($p=0,674$; prueba de Kruskal-Wallis) según el tiempo transcurrido desde la última dosis de PCV. La línea central de las “cajas” corresponde a la mediana y sus extremos representan al RIQ ($P_{25} - P_{75}$).

5. DISCUSIÓN

Las deficiencias de anticuerpos constituyen las IDPs reportadas como las más frecuentes en población pediátrica (66). Una deficiencia de anticuerpos muy común es la de anticuerpos específicos (SAD), descrita como la incapacidad para desarrollar una respuesta de anticuerpos a antígenos polisacáridos del *S. pneumoniae* (neumococo), en presencia de inmunoglobulinas séricas normales (45). El estudio de anticuerpos contra los polisacáridos del neumococo ofrece muchos beneficios como parte de una evaluación inmunológica, incluyendo la disponibilidad y el uso regular de vacunas polivalentes frente a serotipos comunes, y además, la existencia de pruebas que permiten medir los anticuerpos anti-neumococo (24).

La inmunidad humoral debería ser evaluada en pacientes con infecciones recurrentes y/o severas sugestivas de una deficiencia de anticuerpos, y dentro de esta evaluación, el estudio de la respuesta anti-neumococo puede ayudar a definir la severidad de la deficiencia y optar por decisiones terapéuticas (25). En el presente trabajo se estudió una población pediátrica con infecciones recurrentes con el objetivo de detectar casos de SAD, mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo post-inmunización con PPV23, de modo a aportar los primeros datos de esta deficiencia en Paraguay e iniciar el proceso de implementación de su metodología diagnóstica, para posteriormente ofrecerla como un nuevo servicio a la comunidad.

5.1 Caracterización de la población pediátrica con infecciones recurrentes

5.1.1 Caracterización demográfica

En este estudio fueron evaluados 42 pacientes pediátricos con infecciones recurrentes, observándose una mediana de 5 años de edad y un leve predominio (22/42) del sexo masculino. Quezada et al. 2015 (67), reportaron datos similares en cuanto a edad y sexo en una cohorte de niños de Chile con infecciones respiratorias recurrentes. En un estudio más reciente de Bélgica, Buccioli et al. 2019 (49), evaluaron pacientes con infecciones recurrentes en busca de SAD y observaron una mediana de edad de 4 años y un discreto predominio del sexo masculino (52/94).

Por otra parte, la mayoría de los pacientes (22/42) provino de ciudades del Departamento Central; también se observó un número importante (13/42) de pacientes

de ciudades del interior del país. Debe considerarse que los dos hospitales donde fueron localizados los pacientes se encuentran en dicho Departamento y concentran pacientes de varios puntos del país. En un estudio previo en niños con infecciones recurrentes de Paraguay (64), también observaron predominio de pacientes del Departamento Central. A pesar de los esfuerzos de la salud pública para descentralizar los servicios sanitarios, los hospitales de mayor envergadura siguen concentrándose en Asunción y en el Departamento Central.

En esta serie de niños fue frecuente (10/26) la asistencia irregular (ausencias frecuentes) a la institución educativa por motivo de las infecciones recurrentes. Los niños con infecciones a repetición acuden muy frecuentemente a los servicios médicos y son objeto de diversos estudios laboratoriales y por imágenes buscando la etiología de la enfermedad; las visitas constantes a los servicios médicos generan elevados costos y requiere tiempo de las familias, por lo cual, la asistencia a las escuelas o colegios puede verse afectada (17).

5.1.2 Caracterización clínica

En la caracterización clínica de la población de estudio predominaron las infecciones del tracto respiratorio superior e inferior, también fueron frecuentes las infecciones severas como sepsis y neumonía grave. En una cohorte de pacientes con infecciones recurrentes de Bélgica donde buscaron SAD, fueron muy frecuentes las infecciones recurrentes del tracto respiratorio superior, las neumonías y también observaron infecciones invasivas como sepsis, meningitis y abscesos profundos (49). Las infecciones recurrentes en la infancia, especialmente las del tracto respiratorio, son una causa muy común de morbilidad y de visitas médicas (68).

En cuanto a la edad de inicio de las infecciones recurrentes, se observó una mediana de 2 años, y para el número de infecciones al año, la mediana fue de 3 episodios. Grüber et al. 2008 (68), reportaron un promedio de 3,4 episodios de infecciones respiratorias en niños sanos de hasta 2 años de edad. En los primeros años de vida, algunos componentes de la inmunidad innata y/o la adaptativa no responden adecuadamente, sin embargo, cuando las infecciones son muy frecuentes, severas u oportunistas, pueden indicar una IDP, siendo un desafío clínico identificar qué niño

con infección recurrente podría tener una deficiencia de su sistema inmunitario, de modo a diagnosticarla y tratarla oportunamente (69). Además, existen otros factores que pueden influir en la frecuencia y severidad de las infecciones, principalmente las del tracto respiratorio, como el hábito de fumar en la familia, la asistencia a guarderías y la enfermedad alérgica (45).

Otra característica clínica frecuente (33/42) en este estudio fue la enfermedad alérgica, principalmente asma y rinitis. La alergia se considera un factor predisponente para las infecciones recurrentes, dada la inflamación crónica de las membranas mucosas (17). Se ha demostrado que los individuos alérgicos tienen infecciones respiratorias más frecuentes y severas que los no alérgicos (70); en otro estudio de cohortes, la alergia resultó ser un factor significativo para el desarrollo de otitis e infecciones del tracto respiratorio inferior (71), y también se ha reportado que el asma es un factor predisponente para la neumonía (72).

5.2 Evaluación de la respuesta de anticuerpos anti-neumococo

5.2.1 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización con PPV23

Para los niveles de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización se observó una mediana de 40,5 mg/L en la población total evaluada. La distribución según grupos etarios presentó las siguientes medianas: 30,5 mg/L (2 a 3 años), 49,3 mg/L (4 a 5 años), 49,9 mg/L (6 a 8 años) y 66,0 mg/L (mayores de 8 años).

Schauer et al. 2003 (73), reportaron rangos normales para niños sanos, con promedios de 12,3 mg/L (2 a 3 años) y 14,6 mg/L (3 a 4 años), los cuales aumentaron con la edad a 45,5 mg/L (4 a 8 años) y 59,9 (8 a 12 años). Los niveles séricos más bajos entre los 2 y 4 años de edad podrían deberse a que la PCV aún no formaba parte de los esquemas de vacunación en muchos países (año 2003), y los aumentos en edades posteriores, reflejarían la inmunidad natural adquirida para el neumococo. Rose et al. 2013 (34), determinaron niveles pre-inmunización en niños sanos con historial de PCV7 y/o PPV23, observando los siguientes promedios: 46,8 mg/L (2 a 3 años), 66,7 mg/L (3 a 4 años), 107,2 mg/L (4 a 8 años) y 116,6 mg/L (>8 años). Los valores más

elevados observados por estos autores en cada grupo etario podrían deberse a que evaluaron niños sanos, a diferencia de los niños con infecciones recurrentes de este estudio, además, los niños sanos a partir de 4 años tenían en sus esquemas de vacunación a la PPV23, sin embargo, los pacientes de este estudio solo contaban con PCV en sus esquemas de vacunación. Por otro lado, Parker et al. 2016 (74), obtuvieron resultados concordantes con este estudio (Mediana: 40 mg/L y RIQ: 26 – 79 mg/L), sin embargo, este reporte corresponde a un estudio en población adulta.

Como ya se mencionó, las diferencias observadas con respecto a valores previamente reportados para anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización se explicarían por las diferentes poblaciones estudiadas, así, los trabajos previos evaluaron niños sanos (34,73) y en este estudio se evaluó una población de niños con infecciones recurrentes. Además, se conoce por estudios de vacunación que la respuesta inmune a antígenos polisacáridos no solo depende de la edad de cada individuo y del estado de su inmunidad, sino que también varía entre individuos del mismo grupo etario, es decir, la respuesta a polisacáridos del neumococo es considerada muy heterogénea (75).

Por otra parte, en este estudio se observó que 14 niños presentaron niveles pre-inmunización inferior a 27,5 mg/L, valor reportado previamente como nivel protector por el ensayo de ELISA global (34); 12 de estos pacientes contaban con dosis previas de PCV, por tanto, no existe suficiente evidencia para concluir que estos niños no estaban protegidos frente al neumococo. En Paraguay son necesarios más estudios para conocer el grado de protección y la efectividad de la vacuna PCV. No obstante, 3 de estos niños presentaron valores muy bajos (2,3 a 9,4 mg/L), siendo que contaban con la PCV; estos casos podrían corresponder a un grupo denominado PCV-no respondedores (24). La falta de producción de anticuerpos frente a los serotipos contenidos en la PCV podría ser considerada una condición patológica, y se ha propuesto denominar a esta alteración como PCV-SAD, sin embargo, se necesitan más estudios en este grupo de pacientes para una mejor caracterización (25) y en la literatura científica no se han encontrado reportes sobre las causas probables de esta falta de respuesta a la PCV.

Con respecto a los 3 (tres) pacientes que presentaron niveles séricos pre-inmunización superiores a 110 mg/L, dos de ellos no contaban con PCV en sus esquemas de vacunación, y para la otra paciente, ya habían transcurrido más de cinco años desde su última dosis, por tanto, estos niveles pre-inmunización elevados podrían ser interpretados como exposición y/o infección previa y quizás reciente por neumococo (53).

5.2.2 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con PPV23

Para los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización, la mediana fue de 280,9 mg/L (37,7 - 459,3), con un incremento post/pre-inmunización de 6,4 (1,5 - 77,1). Schutz et al. 2013 (76), observaron en adultos sanos un rango de 45 a 2879 mg/L. En un reporte más reciente, Parker et al. 2019 (50), encontraron en adultos sanos un incremento post-inmunización de 9 veces (2 – 19) con un promedio de 375 mg/L (77 – 1238 mg/L). Para cohortes de pacientes con infecciones recurrentes, Lopez et al. 2017 (48), observaron una mediana post-inmunización de 151 mg/L (9 - 1360) e incrementos post/pre de 4,8 (0,8 a 38,9), y, Dziadzio et al. 2017(48), observaron medianas entre 100 y 300 mg/L.

Los valores post-inmunización de este estudio no alcanzaron los incrementos observados por otros autores en adultos sanos, no obstante, presentaron cierta similitud con lo reportado para adultos con infecciones recurrentes. Muy difícilmente los hallazgos coincidan exactamente unos con otros, ya que las variaciones en los niveles de anticuerpos anti-neumococo se ven influenciadas por la historia de vacunación de los pacientes, la exposición previa al neumococo, el estado del sistema inmunitario de cada individuo, los serotipos del neumococo y la edad (77).

Es importante destacar que, todos los trabajos citados en el párrafo anterior fueron realizados en población de adultos, por lo cual las diferencias observadas son esperadas, ya que en este estudio se evaluó niños con infecciones recurrentes. Por otra parte, en la literatura científica no se han encontrado reportes que describan detalladamente los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización con PPV23 en población pediátrica con infecciones recurrentes evaluada mediante el

ELISA global, por tanto, el presente estudio estaría aportando los primeros datos sobre el comportamiento de estos anticuerpos. Los estudios realizados en niños en busca de SAD y que han sido publicados, evaluaron anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipo, probablemente debido a los inconvenientes de sensibilidad que se describen para el ensayo de ELISA global (24).

Con relación a los 14 pacientes con anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización inferiores a 27,5 mg/L, 13 de estos pacientes respondieron adecuadamente a la PPV23. Está reportado que muchos niños que fallan en responder a 3 o 4 dosis de la PCV, responden a una dosis de PPV23, así, Estrada et al. 2016 (78), evaluaron a 72 niños y adolescentes con infecciones respiratorias recurrentes, una población de características similares a la evaluada en el presente estudio, 45 de ellos contaban con la PCV en sus esquemas de vacunación pero presentaban bajos niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización, y observaron que la mayoría de los niños mejoró clínica y serológicamente después de la inmunización con PPV23.

Por otra parte, de los 3 (tres) pacientes con niveles pre-inmunización superiores a 110 mg/L, en dos de ellos se observó una respuesta de anticuerpos anti-neumococo adecuada (incrementos post-inmunización de dos veces los niveles pre-inmunización). Parker et al. 2019 (50), reportaron un incremento post/pre-inmunización que varió de 2 a 19 en adultos sanos. Si bien no se han encontrado sugerencias similares para población pediátrica utilizando el ELISA global, expertos sugieren un incremento mínimo de dos veces para cada anticuerpo anti-serotipo evaluado por el ELISA OMS cuando los niveles pre-inmunización son elevados (29).

5.2.3 Niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según la edad

La edad es un factor importante que influye sobre el nivel de la respuesta a la mayoría de los antígenos polisacáridos del neumococo (52). Estudios previos en población pediátrica han reportado que los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización con PPV23 se incrementaban con la edad (34,73), sin embargo, no evaluaron si las diferencias eran estadísticamente significativas.

En el presente estudio, se observó una discreta tendencia de aumento de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo con la edad de los pacientes, no obstante, la variación de los niveles séricos de anticuerpos en cada grupo etario fue pronunciada y un número reducido de individuos integró cada grupo, finalmente las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas. Esta falta de significancia estadística podría deberse al reducido tamaño de muestra evaluada, o bien, al hecho de haber estudiado una respuesta de anticuerpos anti-neumococo global y no específica de serotipos.

Parker et al. 2019 (50), también estratificaron los niveles de anticuerpos anti-neumococo según la edad de adultos sanos evaluados mediante el ensayo de ELISA global, y no observaron diferencias estadísticamente significativas, lo cual concuerda con el comportamiento observado en este estudio para pacientes pediátricos con infecciones recurrentes.

5.3 Estudio de inmunoglobulinas séricas totales y de subclases de IgG

5.3.1 Niveles séricos de inmunoglobulinas totales IgA, IgG e IgM

Se observó que el 81,0% (34/42) de los pacientes tuvieron los tres isotipos de inmunoglobulinas dentro del rango considerado normal. Estudios previos de niveles séricos de inmunoglobulinas en niños con infecciones recurrentes fueron realizados en Paraguay, así, Ferreira et al. 2010 (79), reportaron valores dentro de los rangos de referencia en 13/17 (76,5%) pacientes y Caballero et al. 2018 (64), observaron una frecuencia de 90,0% (129/143) de pacientes con inmunoglobulinas séricas normales.

La mayoría de los niños que sufren de infecciones recurrentes tienen una inmunidad normal; un sistema inmune fisiológicamente inmaduro u otros factores como las alergias, serían los responsables de las infecciones y solo una pequeña proporción presentaría una IDP (69). Dentro de este grupo, las deficiencias de anticuerpos son las más comunes, no obstante, en un niño con infecciones recurrentes puede estar alterado otro componente del sistema inmunológico, siendo un desafío para el pediatra sospechar de estas enfermedades, solicitar las pruebas de laboratorio pertinentes y diagnosticarlas precozmente para un tratamiento oportuno (80,81).

5.3.2 Niveles séricos de las subclases de IgG: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4

Las subclases de IgG fueron evaluadas en 10 pacientes que presentaron respuesta anti-neumococo deficiente y/o hipogammaglobulinemia de al menos un isotipo de inmunoglobulina sérica total. En 7/10 pacientes se observó niveles séricos dentro del rango considerado normal para las cuatro subclases de IgG. Estudios previos realizados en Paraguay en niños con infecciones recurrentes, no llevaron a cabo el estudio de subclases de IgG (64,79), por tanto, se carece de información local sobre el comportamiento de estos anticuerpos en población pediátrica.

Cabe mencionar que, a nivel país la evaluación de subclases de IgG solo está disponible en laboratorios privados y a costos elevados, lo que dificulta su estudio y la detección de las deficiencias de subclases. En Paraguay, son necesarios estudios para describir los niveles séricos de subclases de IgG en población pediátrica con infecciones recurrentes y conocer la prevalencia de deficiencias de subclases de IgG.

Según el último reporte global sobre IDPs de la Red de Centros Especializados de la Fundación Jeffrey Modell, compuesta por 792 médicos expertos de 86 países, se registraron en latinoamérica un total de 6420 IDPs en el período 2013-2018, de las cuales 108 casos (1,7%) correspondieron a la deficiencia de subclases de IgG (82). Por otra parte, otro grupo de centros que componen la Sociedad Latinoamericana para Inmunodeficiencias Primarias (LASID) registra a la fecha un total de 8548 IDPs, de las cuales 29 casos (0,3%) corresponden a la deficiencia de subclases de IgG y 143 casos (1,7%) a dicha deficiencia combinada con DIgA (59).

5.4 Casos identificados de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) y de otras deficiencias de anticuerpos

5.4.1 Detección de deficiencia de anticuerpos específicos (SAD)

Mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo post-inmunización con PPV23, se detectaron dos pacientes que cumplieron con la definición de SAD. Una paciente presentó anticuerpos anti-neumococo post-inmunización inferior a 110 mg/L; cabe señalar que este punto de corte fue establecido por Lopez et al. 2017 (46) en

población adulta, en un estudio donde compararon el valor diagnóstico del ELISA global con el ELISA OMS (*gold standard*); no se han encontrado reportes sobre puntos de corte post-inmunización para el ELISA global en población pediátrica.

Por otro lado, debe considerarse que los demás pacientes con niveles post-inmunización superiores a 110 mg/L, y principalmente aquellos con historial clínico muy sugestivo de SAD, deberían ser evaluados en un futuro para anticuerpos anti-neumococo específicos de serotipos, ya que se describe una baja sensibilidad para SAD mediante el ensayo de ELISA global (24,46). La determinación de los anticuerpos anti-serotipo no está disponible en Paraguay y en este estudio no fue realizado por su elevado costo y dificultad de implementar; actualmente se encuentra disponible solo en laboratorios de investigación altamente calificados (24).

El otro paciente definido como un caso de SAD en este estudio, presentó niveles de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización superiores a 110 mg/L, pero su incremento post-inmunización no alcanzó dos veces los niveles basales. Para el ELISA global no se han encontrado recomendaciones sobre qué incremento considerar como respuesta adecuada a la PPV23 en población pediátrica, no obstante, Parker et al. 2019 (50), reportaron incrementos de 2 a 19 veces los niveles pre-inmunización en adultos sanos mediante el ensayo de ELISA global, además, para el ELISA OMS también se utiliza como punto de corte el incremento post/pre-inmunización de dos veces o más (29). Convendría evaluar a este paciente en un futuro con el estudio de anticuerpos anti-serotipo para verificar el hallazgo.

5.4.2 Determinación de la frecuencia de SAD

La deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) corresponde a uno de los defectos inmunológicos más frecuentes en pacientes con infecciones respiratorias recurrentes, con prevalencias de 11,0% a 23,1% (23,27,83). La baja frecuencia de SAD de este estudio (2/42; 4,8%) tendría como causas, el reducido tamaño de muestra evaluada y, principalmente, el uso de un ELISA global al cual se le atribuye una baja sensibilidad, de 58% a 70% comparado con el ELISA OMS y con los ensayos multiplex (46,48,84); estos estudios citados fueron realizados en adultos, no se encontraron datos para población pediátrica.

La baja sensibilidad del ELISA global en el diagnóstico de SAD se explicaría por la detección de anticuerpos anti-neumococo elevados frente a un solo serotipo o a unos pocos, lo cual correspondería a un falso negativo (24). A pesar de ello, se trata de un ensayo muy difundido en los laboratorios clínicos de rutina (24) y Lopez et al. 2017 (46), al compararlo con el ELISA OMS, concluyeron que es de utilidad en un primer paso en la detección de SAD, para estudiar luego los anticuerpos anti-serotipo según necesidad, basados principalmente en la historia clínica del paciente. Además, expertos recomiendan que la evaluación de la inmunidad y las acciones terapéuticas para SAD, deberían también considerar la evidencia clínica, y no solamente una respuesta de anticuerpos definida arbitrariamente (24,45).

Los dos casos de SAD detectados y la frecuencia establecida en este estudio constituyen los primeros datos de esta deficiencia en Paraguay. Este aporte se considera relevante porque brinda la primera información sobre la patología a nivel país, la cual es poco conocida entre médicos pediatras locales, destacando así la importancia de sospecharla y evaluar la respuesta anti-neumococo en niños con infecciones recurrentes, para una detección y tratamiento oportunos que benefician al paciente disminuyendo la frecuencia y severidad de las infecciones, mejorando así su calidad de vida.

5.4.3 Detección de otras deficiencias de anticuerpos y determinación de sus frecuencias

En este estudio fueron detectadas otras deficiencias de anticuerpos como: un caso (2,4%) de CVID, 3 casos (7,1%) de DIgA y 4 casos (9,5%) de DIgG. Un estudio previo realizado en Paraguay en niños con infecciones recurrentes (64), reportó a la DIgA y CVID como las más frecuentes, en cambio, no fueron detectadas deficiencias aisladas de IgG.

La paciente con CVID de este estudio, presentó una respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo. Una respuesta alterada a antígenos polisacáridos puede encontrarse como un rasgo de inmunodeficiencias primarias más severas, tales como la CVID y el síndrome de Wiskott–Aldrich (56). Por otra parte, la DIgA fue la segunda deficiencia más frecuente de este estudio; según un reporte del Grupo Latinoamericano

para inmunodeficiencias primarias, esta deficiencia afecta a 1 en 700 nacidos vivos, siendo la más común de las IDPs (66). Los tres casos de DIgA de este estudio corresponderían a deficiencias parciales, ya que los valores de IgA fueron superiores a 7 mg/L pero inferior al rango normal, y un caso podría ser transitorio, considerando la edad menor a 4 años de la paciente (65,85). Es importante realizar un seguimiento clínico a pacientes con DIgA, debido a que su progresión a CVID ha sido reportada (86), además, se asocia a autoinmunidad y se han reportado reacciones post-transfusión sanguínea en individuos con la deficiencia (87)

La DIgG fue la más frecuente en este estudio; la AAAAAI clasifica este defecto como una hipogammaglobulinemia no especificada, y en niños menores de 5 años (pacientes N°15 y 42) podría corresponder a una hipogammaglobulinemia transitoria de la infancia (11), la que requiere seguimiento en el tiempo en cuanto a los niveles séricos de IgG (88). Estudios previos han reportado la DIgG con frecuencias de 3,0% (3/89) en niños con infecciones recurrentes (27) y de 11,3% (7/62) en adultos con sospecha de IDPs. Otros autores han descrito pacientes con esta deficiencia, bajo la denominación de hipogammaglobulinemia no clasificada (89,90).

Con respecto a la deficiencia de subclases de IgG, en este estudio no fue detectado ningún caso. Si bien 3/10 pacientes presentaron niveles séricos disminuidos de subclases de IgG, no cumplieron con el criterio de IgG sérica normal para definir esta deficiencia. Uno de estos casos fue definido como CVID y los otros dos correspondieron a DIgG o hipogammaglobulinemias no especificadas (11). Por otro lado, debe considerarse que la IgG1 comprende aproximadamente el 60% del nivel total de IgG, por ello, usualmente la deficiencia de IgG1 está asociada con niveles disminuidos de IgG total (91), comportamiento observado en una paciente (N°27) de este estudio.

Cabe mencionar que, en este estudio las definiciones de SAD y de otras deficiencias de anticuerpos estuvieron basadas en el fenotipo clínico e inmunológico (15). En Paraguay, aún no es posible realizar un diagnóstico genotípico de las IDPs, ya que no están disponibles los métodos moleculares para detectar las mutaciones génicas implicadas; sería de mucha relevancia para el país implementar a futuro el

diagnóstico molecular de estas patologías. Por otra parte, para la mayoría de las DPA detectadas en este estudio como SAD, DIgA, DIgG, aún se desconocen los defectos génicos subyacentes (12), por tanto, el diagnóstico de estas deficiencias es por lo general en base al fenotipo clínico-inmunológico.

5.5 Caracterización clínico-demográfica de pacientes con SAD y con otras deficiencias de anticuerpos detectadas en este estudio

En los 10 pacientes con deficiencias de anticuerpos detectadas, en la distribución por sexo no se observó un marcado predominio (6/10 eran mujeres), la mediana de edad fue de 6 años y la mayoría de los pacientes (8/10) eran de Asunción o del Departamento Central. Caballero et al. 2018 (64), reportaron características demográficas muy semejantes para su cohorte de niños con infecciones recurrentes de Paraguay.

En la caracterización clínica se observó un predominio de infecciones recurrentes del tracto respiratorio, también fue frecuente la infección severa como sepsis y neumonía grave, y los 10 pacientes eran alérgicos. Está documentado que las infecciones respiratorias son las más frecuentes en las DPA, debido principalmente a la importante función de los anticuerpos frente a microorganismos que ingresan por las mucosas de las vías aéreas (4), y su asociación con las alergias también ha sido reportada (92). Por otra parte, la edad de inicio de las infecciones tuvo una mediana de 2 años y, considerando como edad del diagnóstico la que tenían los pacientes al participar del estudio (mediana de 6 años), la diferencia de 4 años podría corresponder a un retraso en el diagnóstico de la DPA. Un estudio realizado en Argentina encontró datos similares en pacientes con CVID y SAD, observaron un promedio de 4 a 5 años entre el inicio de las infecciones y el diagnóstico (93).

Por otra parte, en 5/10 pacientes con deficiencias de anticuerpos se observó un antecedente familiar relacionado a IDPs, como tener hermano/a con infecciones recurrentes y muerte infantil temprana, al respecto puede mencionarse que la historia familiar en pacientes afectados por estas patologías puede revelar consanguinidad en los padres, muertes infantiles tempranas inexplicables en la familia o aparición de síntomas similares en los miembros de la familia, lo cual es importante para el rápido

reconocimiento de los trastornos genéticos, sin embargo, muchas mutaciones pueden ser nuevas y los antecedentes familiares no son necesariamente positivos, incluso si hay un defecto genético (2).

Las infecciones más frecuentes en los pacientes con SAD fueron los abscesos y las adenopatías, no obstante, también se documentó en ellos la presencia de otras infecciones como las del tracto respiratorio superior, sinusitis, entre otras, además, se observó en ambos la presencia de alergia e infección severa. Los pacientes afectados por SAD son altamente susceptibles a infecciones severas del tracto respiratorio con bacterias encapsuladas (94), y la prevalencia de alergia, principalmente asma y rinitis está incrementada en esta deficiencia (27). En un trabajo publicado recientemente, reportaron 62 casos de SAD y 59/62 tenían asma y/o rinitis alérgica (95).

Por otra parte, un estudio realizado en Chile por Quezada et al. (67), reportó 8/20 pacientes con SAD; en todos se observó neumonía recurrente, asma y la edad al diagnóstico varió de 3 a 11 años. Sin embargo, se han reportado otros espectros clínicos para SAD, así, Bucciol et al. 2019 (49) reportaron 18/94 pacientes con SAD, y si bien la mayoría presentó infecciones respiratorias, tres adultos manifestaron candidiasis mucocutánea crónica y otro paciente presentó hepatitis granulomatosa.

5.6 Caracterización de pacientes pediátricos con infecciones recurrentes en cuanto a su estado previo de inmunización con PCV

Rose et al. 2013 (34), evaluaron pacientes con y sin historial de haber recibido PCV y observaron que los niveles de anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización fueron superiores en los pacientes inmunizados. También se ha reportado que la vacunación previa con PCV afecta la respuesta de anticuerpos a la PPV23 por un proceso denominado de “cebado”, mecanismo del cual aún no se tiene mucha información (96). Por otra parte, se ha demostrado que los anticuerpos producidos por vacunas neumocócicas persisten por más de 4 a 5 años después de la administración de la PCV (97,98).

A diferencia de estos datos reportados, en este estudio no se observó diferencia significativa entre los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo según dosis de

PCV, tampoco hubo diferencias según tiempo transcurrido desde la última dosis, por tanto, el estado previo de inmunización con PCV probablemente no afectó los niveles de anticuerpos anti-neumococo en esta serie de niños, no obstante, debe considerarse que se observó una importante variación de los niveles de anticuerpos anti-neumococo en cada grupo y que el número de pacientes por grupo fue muy reducido. El reducido tamaño de la muestra evaluada, y principalmente, la determinación de una respuesta anti-neumococo global, podrían representar una limitación para no haber observado diferencias significativas, o bien, las características propias de la población evaluada que fue de niños con infecciones recurrentes, a diferencia de lo reportado previamente donde evaluaron población de niños sanos.

5.7 Diagnóstico y manejo terapéutico de los pacientes con respuesta anti-neumococo deficiente

Las opciones de estrategias terapéuticas para pacientes con diagnóstico de SAD están mayormente basadas en la experiencia clínica (45) y expertos recomiendan lo siguiente: profilaxis con antibióticos; manejo agresivo de otras condiciones como el asma, la rinitis alérgica y la rinosinusitis crónica; vigilancia incrementada y terapia apropiada con antibióticos para las infecciones; inmunización con PCV y el reemplazo con inmunoglobulina humana intravenosa (24).

Cada paciente que participó de este estudio, una vez completadas las pruebas de laboratorio, fue derivado a consulta con un médico especialista en IDPs (IMT – MSPyBS). El diagnóstico establecido en los pacientes con respuesta anti-neumococo deficiente fue, CVID en una de ellas y SAD en la otra paciente con niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo inferior a 110 mg/L, ambas iniciaron tratamiento con inmunoglobulina humana intravenosa. En el tercer paciente que fue definido como un caso de SAD en este estudio, con incremento de sus niveles de anticuerpos anti-neumococo post/pre-inmunización inferior a dos, se indicó la realización de anticuerpos anti-serotipo para definir el diagnóstico y tomar la decisión terapéutica en base a los resultados.

Finalmente, cabe mencionar que todos los niños participantes fueron inmunizados con PPV23 con fines diagnósticos, no obstante, esta vacuna les

proporcionó protección contra otros serotipos del neumococo no contenidos en la PCV10 o PCV13, lo que representó un beneficio adicional. Este beneficio es de mucha importancia para los 8 pacientes con una DPA diferente a SAD, ya que se recomienda que niños en riesgo, como la presencia de una inmunodeficiencia congénita, reciban inmunización con PPV23 después de finalizar sus series con PCV, debido que se trata de grupos más susceptibles a infección neumocócica invasiva (31).

5.8 Limitaciones del estudio

5.8.1 Tamaño de la muestra

La situación sanitaria del país debido a la pandemia del coronavirus afectó el reclutamiento de pacientes del presente estudio; en el periodo 2019 se reclutaron 35 pacientes, sin embargo, en el año 2020 solo 9 pacientes fueron reclutados, por lo que no fue posible alcanzar el tamaño de muestra planteado de 61 pacientes. El reducido tamaño de muestra representaría una causa importante de la baja frecuencia de SAD, ya que la inclusión de más pacientes permitiría detectar más casos, además, pudo afectar la inferencia estadística respecto a los niveles de anticuerpos anti-neumococo según la edad, dosis previas de PCV y tiempo transcurrido desde la última dosis; es una posibilidad que al aumentar el tamaño de muestra se observen diferencias significativas en algunas de estas variables.

5.8.2 Determinación de una respuesta anti-neumococo global y no específica de serotipos

El estudio de anticuerpos anti-serotipo frente al neumococo no está aún disponible en el país, y en el presente trabajo, el ELISA OMS (*gold standard*) no pudo ser implementado debido a su elevado costo y dificultad de aplicación, ya que se trata de un ELISA a ensamblar y estandarizar para cada serotipo.

La baja frecuencia observada de SAD en este estudio, pudo deberse a la determinación de una respuesta global y no específica de serotipos, ya que se describe una baja sensibilidad para el ensayo de ELISA global (24,46). Por otra parte, en un paciente definido como caso de SAD, no fue posible establecer el diagnóstico de la deficiencia según criterio del médico tratante y se sugirió la determinación de los

anticuerpos anti-serotipo, lo cual constituyó una limitación de este trabajo. Además, los pacientes con respuesta global anti-neumococo normal de este estudio, y especialmente aquellos con historia clínica muy sugerente de SAD, deberían ser evaluados con los métodos específicos de serotipos para detectar o descartar la deficiencia.

5.8.3 Criterios para respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo

El principal criterio de niveles séricos post-inmunización ≤ 110 mg/L fue reportado para población adulta. Una paciente de este estudio con nivel sérico post-inmunización de 113,9 mg/L (Anexo 4) correspondería a un caso de SAD si el punto de corte para niños fuese superior a 110 mg/L; otros tres pacientes con valores entre 173,5 y 175,1 (Anexo 4) probablemente no se verían afectados ya que estos niveles se encuentran más alejados de 110 mg/L. Si el punto de corte fuese inferior a 110 mg/L, las dos pacientes con respuesta deficiente anti-neumococo continuarían siendo definidas con dicha respuesta, ya que sus niveles resultaron muy inferiores al punto de corte utilizado.

El criterio de incremento post/pre-inmunización inferior a dos fue aplicado a tres pacientes; si este punto de corte fuera mayor en niños, dos de estos pacientes serían definidos como SAD, ya que presentaron un incremento igual a 2 (Anexo 4). El paciente ya definido con la deficiencia solo se vería afectado si el punto de corte fuera inferior a 1,5. Se necesitan realizar estudios de comparación entre el ELISA global con el ELISA OMS o con los ensayos multiplex, de modo a obtener un valor de corte para SAD en población pediátrica con infecciones recurrentes.

6. CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones y perspectivas del estudio

6.1.1 Conclusiones

- Se detectaron dos casos de SAD en pacientes con respuesta deficiente de anticuerpos anti-neumococo y niveles séricos normales de inmunoglobulinas.
- Los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización aumentaron significativamente, excepto en dos pacientes con niveles inferiores a 110 mg/L, y un paciente presentó incremento post/pre-inmunización inferior a dos.
- Se observó una importante variación de los niveles de anticuerpos anti-neumococo en los grupos, constituidos por reducido número de pacientes, según edad y estado previo de inmunización con PCV, sin diferencias significativas entre grupos.
- Se encontró hipogamaglobulinemia de IgA y/o IgG, detectándose 4 casos de DIgG, 3 casos de DIgA y una CVID con respuesta anti-neumococo deficiente.
- Niveles reducidos de subclases de IgG se observaron en la paciente con CVID y en dos pacientes con DIgG, pero ninguno correspondió a una deficiencia de subclases según los criterios utilizados.
- Se determinó una frecuencia de 4,8% (2/42) para SAD y la deficiencia de anticuerpos más frecuente fue la DIgG (4/42; 9,5%)
- Predominaron las infecciones respiratorias recurrentes, reiterando la importancia de sospechar una DPA en niños con estas infecciones, además, se observó una diferencia aproximada de 4 años entre el inicio de infecciones y el diagnóstico, por lo que sería necesario difundir el conocimiento sobre estas deficiencias entre médicos pediatras locales para una sospecha clínica y diagnóstico oportunos.
- Se aportaron los primeros datos sobre SAD en Paraguay e información de los niveles séricos de anticuerpos anti-neumococo pre y post-inmunización con PPV23. Además, este trabajo fue el inicio del proceso de implementación de la metodología diagnóstica para SAD, la cual aún no estaba disponible en el país y podrá ofrecerse posteriormente como un nuevo servicio diagnóstico.

6.1.2 Perspectivas

Este estudio tiene como proyección aumentar el tamaño de muestra con el propósito de detectar más casos de SAD, de modo a determinar una frecuencia más precisa de la deficiencia en niños con infecciones recurrentes de nuestro medio, y una mejor caracterización clínica e inmunológica de los pacientes afectados.

Otra perspectiva es evaluar los anticuerpos anti-neumococo por serotipos mediante el ensayo multiplex, utilizando el equipo de tecnología Luminex™ ya disponible en el IICS. Los resultados de anticuerpos anti-serotipo podrán ser comparados con los del ELISA global de este estudio, para establecer un punto de corte para anticuerpos post-inmunización en niños, lo cual será de mucha utilidad para laboratorios clínicos de rutina que utilizan el ELISA global para detectar SAD.

Una vez establecido dicho punto de corte, se estaría concluyendo el proceso de implementación de la metodología diagnóstica para SAD y podrá ser ofrecida a la comunidad como un nuevo servicio diagnóstico, sencillo de aplicar y de bajo costo. Esto permitirá fortalecer la detección de SAD en Paraguay, una deficiencia cuyo diagnóstico temprano es sumamente importante para iniciar un tratamiento oportuno, disponible y gratuito en el país, el cual reduce la frecuencia y severidad de las infecciones mejorando la calidad de vida del paciente.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. 8va ed. Barcelona, España: Elsevier Inc; 2015.
2. Rezaei N, Aghamohammadi A, Notarangelo LD. *Primary Immunodeficiency Diseases. Definition, Diagnosis and Management*. 2da ed. Berlin, Heidelberg: Springer; 2017.
3. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. *Inmunología de Kuby*. 6ta ed. México, D.F: McGraw-Hill Interamericana; 2007.
4. Fried AJ, Bonilla FA. Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Primary Antibody Deficiencies and Infections. *Clin Microbiol Rev*. 2009;22(3):396–414.
5. Quezada SA, Jarvinen LZ, Lind EF, Noelle RJ. CD40/CD154 interactions at the interface of tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:307–28.
6. Vos Q, Lees A, Wu ZQ, Snapper CM, Mond JJ. B-cell activation by T-cell-independent type 2 antigens as an integral part of the humoral immune response to pathogenic microorganisms. *Immunol Rev*. 2000;176(1):154–70.
7. Lopes-Carvalho T, Kearney JF. Development and selection of marginal zone B cells. *Immunol Rev*. 2004;197(1):192–205.
8. Hayakawa K, Hardy RR. Development and function of B-1 cells. *Curr Opin Immunol*. 2000;12:346–54.
9. Mackay F, Schneider P. TACI, an enigmatic BAFF/APRIL receptor, with new unappreciated biochemical and biological properties. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008;19(3–4):263–76.
10. Ballow M, Notarangelo L, Grimbacher B, Cunningham-Rundles C, Stein M, Helbert M, et al. Immunodeficiencies. *Clin Exp Immunol*. 2009;158(Suppl.1):14–22.
11. Bonilla F, Khan D, Ballas Z, Chinen J, Frank M, Hsu J, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136(5):1186-1205.e78.
12. Tangye SG, Al-Herz W, Bousfiha A, Chatila T, Cunningham-Rundles C, Etzioni A, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. *J Clin Immunol*. 2020;40(1):24–64.
13. Bonilla FA, Geha RS. Immunologic disorders. Primary immunodeficiency diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(2):S571-581.
14. Jeffrey Modell Foundation. 10 Warning Signs of Primary Immunodeficiency

[Internet]. 2016 [citado en Abril de 2019]. Disponible en: <http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs>

15. Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, Al-Herz W, Ailal F, Chatila T, et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. *J Clin Immunol*. 2020;40(1):66–81.
16. European Society for Immunodeficiencies. ESID Registry – Working Definitions for Clinical Diagnosis of PID [Internet]. 2016 [citado en enero de 2020]. Disponible en: <https://esid.org/Working-Parties/Registry-Working-Party/Diagnosis-criteria>
17. Barzuna L, Abdelnour A, Alfaro-bourrouet W, Porras Ó. Prevalencia de alergia en niños con infección recurrente. *Alergia, Asma e Inmunol Pediátricas*. 2008;17(1):5–13.
18. Rodríguez-González M, Espinosa-Rosales F. Uso de glucocorticoides en enfermedades alérgicas. *Acta Pediatr Mex*. 2017;38(1):63–71.
19. Saxon A, Kobayashi RH, Stevens RH, Singer AD, Stiehm ER, Siegel SC. In vitro analysis of humoral immunity in antibody deficiency with normal immunoglobulins. *Clin Immunol Immunopathol*. 1980;17:235–44.
20. French MAH, Harrison G. Systemic antibody deficiency in patients without serum immunoglobulin deficiency or with selective IgA deficiency. *Clin Exp Immunol*. 1984;56:18–22.
21. Ambrosino DM, Siber GR, Chilmonczyk BA, Jernberg JB, Finberg RW. An immunodeficiency characterized by impaired antibody responses to polysaccharides. *N Engl J Med*. 1987;316(13):790–3.
22. Erman B, Demirtaş D, Bildik HN, Çağdaş-Ayvaz D, Sanal Ö, Tezcan İ. Defective pneumococcal antibody response in patients with recurrent respiratory tract infections. *Turk J Pediatr*. 2017;59(5):555–60.
23. 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. *Clin Exp Immunol*. 2013;172(2):238–44.
24. Sorensen RU, Edgar D. Specific Antibody Deficiencies in Clinical Practice. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(3):801–8.
25. Wall LA, Dimitriades VR, Sorensen RU. Specific Antibody Deficiencies. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2015;35(4):659–70.
26. Sanders L, Rijkers G, Kuis W, Tenbergen-Meeke A, De Graeff-Meeder B, Hiemstra I, et al. Defective antipneumococcal polysaccharide antibody response in children with recurrent respiratory tract infections. *J Allergy Clin*

- Immunol. 1993;91(1):110–9.
27. Boyle RJ, Le C, Balloch A, Tang MLK. The clinical syndrome of specific antibody deficiency in children. *Clin Exp Immunol*. 2006;146(3):486–92.
 28. Fernández F, Campillay R, Palma V, Norambuena X, Quezada A, Inostroza J. Deficiencia de anticuerpos específicos: inmunodeficiencia primaria asociada a alergia respiratoria. *Rev Chil Pediatría*. 2016;88(2):252–7.
 29. Orange JS, Ballou M, Stiehm ER, Ballas ZK, Chinen J, De La Morena M, et al. Use and interpretation of diagnostic vaccination in primary immunodeficiency: A working group report of the Basic and Clinical Immunology Interest Section of the American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(3):S1–24.
 30. Park IH, Pritchard DG, Cartee R, Brandao A, Brandileone MCC, Nahm MH. Discovery of a New Capsular Serotype (6C) within Serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol*. 2007;45(4):1225–33.
 31. Daniels C, Rogers D, Shelton C. A Review of Pneumococcal Vaccines: Current Polysaccharide Vaccine. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2016;21(1):27–35.
 32. Bogaert D, Hermans PWM, Adrian P V., Rümke HC, De Groot R. Pneumococcal vaccines: An update on current strategies. *Vaccine*. 2004;22(17–18):2209–20.
 33. Llopis MJP, Harms G, Hardonk MJ, Timens W. Human immune response to pneumococcal polysaccharides: Complement-mediated localization preferentially on CD21-positive splenic marginal zone B cells and follicular dendritic cells. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;97(4):1015–24.
 34. Rose MA, Buess J, Ventur Y, Zielen S, Herrmann E, Schulze J, et al. Reference ranges and cutoff levels of pneumococcal antibody global serum assays (IgG and IgG2) and specific antibodies in healthy children and adults. *Med Microbiol Immunol*. 2013;202(4):285–94.
 35. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Morbidity and Mortality Weekly Report, Vol. 59, N°34 [Internet]. 3 de setiembre, 2010 [citado en marzo de 2020]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/mmwr/index2010.html>
 36. Whitney C, Farley M, Hardler J, Harrison L, Bennett N, Lynfield R. Decline in Invasive Pneumococcal Disease after the Introduction of Protein–Polysaccharide Conjugate Vaccine. *N Engl J Med*. 2003;348(18):1737–46.
 37. Bryant KA, Block SL, Baker SA, Gruber WC, Scott DA. Safety and immunogenicity of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics*. 2010;125(5):866–75.

38. Aranda C, Lovera D, Arbo A. Cambios en el Patrón Epidemiológico y resistencia Bacteriana de la Meningitis Bacteriana Aguda en Niños en un hospital de referencia. *Rev Inst Med Trop.* 2014;9(2):10–20.
39. León ME, Kawabata A, Nagai M, Rojas L, Irala J, Ortellado J, et al. Frecuencia de *Streptococcus pneumoniae* aislados de enfermedad invasiva en Paraguay, serotipos y perfil de sensibilidad (2010-2018). *Mem Inst Investig Cienc Salud.* 2020;18(1):38–46.
40. Dananché C, Paranhos-Baccalà G, Messaoudi M, Sylla M, Awasthi S, Bavdekar A, et al. Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in Children Aged <5 Years Hospitalized With or Without Pneumonia in Developing and Emerging Countries: A Descriptive, Multicenter Study. *Clin Infect Dis.* 2020;70(5):875–83.
41. Kieninger MP, Caballero EG, Sosa AA, Amarilla CT, Jáuregui B, Janusz CB, et al. Cost-effectiveness analysis of pneumococcal conjugate vaccine introduction in Paraguay. *Vaccine.* 2015;33(Suppl 1):A143–53.
42. Programa Ampliado de Inmunizaciones (PAI), Paraguay. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPyBS) [Internet]. 2019 [citado en abril de 2020]. Disponible en: <https://www.mspbs.gov.py/pai-sobre-las-vacunas.html>
43. Daly TM, Hill R. Use and Clinical Interpretation of Pneumococcal Antibody Measurements in the Evaluation of Humoral Immune Function. *Clin Vaccine Immunol.* 2015;22(2):148–52.
44. Wernette CM, Frasch CE, Madore D, Carlone G, Goldblatt D, Plikaytis B, et al. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Quantitation of Human Antibodies to Pneumococcal Polysaccharides. *Clin Vaccine Immunol.* 2003;10(4):514–9.
45. Perez E, Bonilla FA, Orange JS, Ballow M. Specific Antibody Deficiency: Controversies in Diagnosis and Management. *Front Immunol.* 2017;8(586):1–11.
46. Lopez B, Bahuaud M, Fieschi C, Mehral S, Jeljeli M, Rogeau S, et al. Value of the overall pneumococcal polysaccharide response in the diagnosis of primary humoral immunodeficiencies. *Front Immunol.* 2017;8(1862):1–9.
47. Whaley MJ, Rose C, Martinez J, Laher G, Sammons DL, Smith JP, et al. Interlaboratory Comparison of Three Multiplexed Bead-Based Immunoassays for Measuring Serum Antibodies to Pneumococcal Polysaccharides. *Clin Vaccine Immunol.* 2010;17(5):862–9.
48. Dziadzio M, Morales G, Harvey J, Smith R, Lukawska J, Tahami F, Ceron-Gutierrez L et al. Comparison of 23-Valent Pneumococcal IgG ELISA with Multiplex 13-Valent Serotype-Specific Antibody Assay as Diagnostic Tools in Subjects with Suspected Antibody Deficiency. *J Mol Immunol.* 2017;2(2):1–6.

49. Bucciol G, Schaballie H, Schrijvers R, Bosch B, Proesmans M, De Boeck K, et al. Defining Polysaccharide Antibody Deficiency: Measurement of Anti-Pneumococcal Antibodies and Anti-Salmonella typhi Antibodies in a Cohort of Patients with Recurrent Infections. *J Clin Immunol*. 2020;40(1):105–13.
50. Parker AR, Park MA, Harding S, Abraham RS. The total IgM, IgA and IgG antibody responses to pneumococcal polysaccharide vaccination (Pneumovax®23) in a healthy adult population and patients diagnosed with primary immunodeficiencies. *Vaccine*. 2019;37(10):1350–5.
51. Bossuyt X, Borgers H, Moens L, Verbinnen B, Meyts I. Age- and serotype-dependent antibody response to pneumococcal polysaccharides. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(4):1079–80.
52. Sorensen RU, Leiva LE, Iii CJ, Daniela M, Bradford N, Butler B, et al. Influence of age on the response to Streptococcus pneumoniae vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. *J Allergy Clin Immunol*. 1998;102(2):215–21.
53. Siber GR, Chang I, Baker S, Fernsten P, O'Brien KL, Santosham M, et al. Estimating the protective concentration of anti-pneumococcal capsular polysaccharide antibodies. *Vaccine*. 2007;25(19):3816–26.
54. Beck SC. Making sense of serotype-specific pneumococcal antibody measurements. *Ann Clin Biochem*. 2013;50(6):517–9.
55. Alachkar H, Taubenheim N, Haeney MR, Durandy A, Arkwright PD. Memory switched B cell percentage and not serum immunoglobulin concentration is associated with clinical complications in children and adults with specific antibody deficiency and common variable immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2006;120(3):310–8.
56. Schaballie H, Vermeulen F, Verbinnen B, Frans G, Vermeulen E, Proesmans M, et al. Value of allohaemagglutinins in the diagnosis of a polysaccharide antibody deficiency. *Clin Exp Immunol*. 2015;180(2):271–9.
57. Schatorjé EJH, de Jong E, van Hout RWNM, García Vivas Y, de Vries E. The Challenge of Immunoglobulin-G Subclass Deficiency and Specific Polysaccharide Antibody Deficiency – a Dutch Pediatric Cohort Study. *J Clin Immunol*. 2016;36(2):141–8.
58. Knutsen AP. Spectrum of antibody deficiency disorders with normal or near-normal immunoglobulin levels. *Pediatr Asthma, Allergy Immunol*. 2006;19(1):51–62.
59. LASID. Registry of Latin American Society for Immunodeficiencies. LASID PID Registry [Internet]. 2019 [citado en octubre 2020]. Disponible en: <https://lasidregistry.org/>

60. Sanabria D, Giménez V, Carpinelli MM, Rolón J. Primera experiencia en Paraguay para determinación de valores de referencia por la técnica de dihidrorodamina (DHR) en la evaluación del estallido respiratorio de neutrófilos en niños sanos. *Pediatr (Asunción)*. 2016;43(1):33–8.
61. Sanabria D, Giménez V, Carpinelli MM, Martínez de Cuéllar C. Estallido respiratorio de neutrófilos por las técnicas del nitroazul tetrazolio (NBT) y dihidrorodamina (DHR) en niños con sospecha clínica de enfermedad granulomatosa crónica (EGC). *Pediatr (Asunción)*. 2017;4(1):49–55.
62. Martínez de Cuéllar C, Lovera D, Amarilla S, Gatti L, Apodaca S, Sanabria D, et al. Características clínicas y manifestaciones infecciosas en pacientes con Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC) en Paraguay. *Pediatr (Asunción)*. 2018;45(2):127–34.
63. Sanabria D, Giménez V, de Cuéllar CM, Carpinelli M, Benegas S, Insaurrealde S. Chronic granulomatous disease. Diagnosis by the dihydrorhodamine assay. *Rev Chil Pediatr*. 2020;91(1):19–26.
64. Caballero F, Benegas S, Giménez V, Granado E, Martínez de Cuéllar C, Carpinelli MM, et al. Deficiencias de anticuerpos en niños y adolescentes con infecciones recurrentes y/o graves. *Pediatr (Asunción)*. 2018;45(2):141–6.
65. Yel L. Selective IgA Deficiency. *J Clin Immunol*. 2010;30(1):10–6.
66. Leiva LE, Zelazco M, Oleastro M, Carneiro-Sampaio M, Condino-Neto A, Costa-Carvalho BT, et al. Primary immunodeficiency diseases in Latin America: The second report of the LAGID Registry. *J Clin Immunol*. 2007;27(1):101–8.
67. Quezada A, Norambuena X, Inostroza J, Rodríguez J. Specific antibody deficiency with normal immunoglobulin concentration in children with recurrent respiratory infections. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2015;43(3):292–7.
68. Grüber C, Keil T, Kulig M, Roll S, Wahn U, Wahn V, et al. History of respiratory infections in the first 12 yr among children from a birth cohort. *Pediatr Allergy Immunol*. 2008;19(6):505–12.
69. Slatter MA, Gennery AR. Clinical Immunology Review Series: An approach to the patient with recurrent infections in childhood. *Clin Exp Immunol*. 2008;152(3):389–96.
70. Ciprandi G, Tosca MA, Fasce L. Allergic children have more numerous and severe respiratory infections than non-allergic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2006;17(5):389–91.
71. Karevold G, Kvestad E, Nafstad P, Kværner KJ. Respiratory infections in

- schoolchildren: Co-morbidity and risk factors. *Arch Dis Child*. 2006;91(5):391–5.
72. Zaidi SR, Blakey JD. Why are people with asthma susceptible to pneumonia? A review of factors related to upper airway bacteria. *Respirology*. 2019;24(5):423–30.
 73. Schauer U, Stemberg F, Rieger CHL, Bu W, Borte M, Schubert S, et al. Levels of Antibodies Specific to Tetanus Toxoid, Haemophilus influenzae Type b, and Pneumococcal Capsular Polysaccharide in Healthy Children and Adults. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2003;10(2):202–7.
 74. Parker AR, Allen S, Harding S. Concentration of anti-pneumococcal capsular polysaccharide IgM, IgG and IgA specific antibodies in adult blood donors. *Pract Lab Med*. 2016;5:1–5.
 75. Rose M, Hey C, Kujumdshiev S, Gall V, Schubert R, Zielen S. Immunogenicity of pneumococcal vaccination of patients with cochlear implants. *J Infect Dis*. 2004;190(3):551–7.
 76. Schutz K, Hughes RG, Parker A, Quinti I, Thon V, Cavaliere M, et al. Kinetics of IgM and IgA antibody response to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination in healthy subjects. *J Clin Immunol*. 2013;33(1):288–96.
 77. Suzuki M, Dhoubhadel BG, Ishifuji T, Yasunami M, Yaegashi M, Asoh N, et al. Serotype-specific effectiveness of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine against pneumococcal pneumonia in adults aged 65 years or older: a multicentre, prospective, test-negative design study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(3):313–21.
 78. Estrada J, Najera M, Pounds N, Catano G, Infante AJ. Clinical and Serologic Response to the 23-valent Polysaccharide Pneumococcal Vaccine in Children and Teens with Recurrent Upper Respiratory Tract Infections and Selective Antibody Deficiency. *Pediatr Infect Dis J*. 2016;35(2):205–8.
 79. Ferreira L, Picaguá E, Martínez C, Carpinelli M, Rovira C, Giménez V. Niveles séricos de inmunoglobulinas en niños con infecciones a repetición. *Pediatría (Asunción)*. 2010;37(2):123–6.
 80. De Martino M, Ballotti S. The child with recurrent respiratory infections: Normal or not? *Pediatr Allergy Immunol*. 2007;18(Suppl.18):13–8.
 81. Leiva LE, Monjure H, Sorensen RU. Recurrent respiratory infections, specific antibody deficiencies, and memory b cells. *J Clin Immunol*. 2013;33(Suppl.1):S57-61.
 82. Modell V, Orange JS, Quinn J, Modell F. Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on

disease classification, regional trends, treatment modalities, and physician reported outcomes. *Immunol Res.* 2018;66(3):367–80.

83. Javier FC, Moore CM, Sorensen RU. Distribution of primary immunodeficiency diseases diagnosed in a pediatric tertiary hospital. *Ann Allergy, Asthma Immunol.* 2000;84(1):25–30.
84. Janssen WJM, Bloem AC, Vellekoop P, Driessen GJ, Boes M, Van Montfrans JM. Measurement of pneumococcal polysaccharide vaccine responses for immunodeficiency diagnostics: Combined IgG responses compared to serotype specific IgG responses. *J Clin Immunol.* 2014;34(1):3–6.
85. Živković J, Lipej M, Banić I, Bulat Lokas S, Nogalo B, Lulić Jurjević R, et al. Respiratory and allergic disorders in children with severe and partial immunoglobulin A immunodeficiency. *Scand J Immunol.* 2019;90(6):e12828.
86. Aghamohammadi A, Mohammadi J, Parvaneh N, Rezaei N, Moin M, Espanol T, et al. Progression of selective IgA deficiency to common variable immunodeficiency. *Int Arch Allergy Immunol.* 2008;147(2):87–92.
87. Rojas-Torres DS, Bastidas-Yaguana DK, Sierra-Santos L, Aguilar-Shea AL. Importancia del déficit selectivo de inmunoglobulina A. *Semergen.* 2014;40(3):3–6.
88. Ozen A, Baris S, Karakoc-Aydiner E, Ozdemir C, Bahceciler NN, Barlan IB. Outcome of hypogammaglobulinemia in children: Immunoglobulin levels as predictors. *Clin Immunol.* 2010;137(3):374–83.
89. Keles S, Artac H, Kara R, Gokturk B, Ozen A, Reisli I. Transient hypogammaglobulinemia and unclassified hypogammaglobulinemia: Similarities and differences. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010;21(5):843–51.
90. Kutukculer N, Gulez N. The outcome of patients with unclassified hypogammaglobulinemia in early childhood. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009;20(7):693–8.
91. Wasserman R, Sorensen R. Evaluating children with respiratory tract infections: the role of immunization with bacterial polysaccharide vaccine. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18(2):157–63.
92. De Moraes Lui C, Oliveira LC, Diogo CL, Kirschfink M, Grumach AS. Immunoglobulin G subclass concentrations and infections in children and adolescents with severe asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2002;13(3):195–202.
93. Bezrodnik L, Gaillard MI, Carelli D. Clinical and immunological assessment of 94 patients with primary humoral immunodeficiency: Common variable immunodeficiency, selective IgA deficiency and polysaccharide antibody

deficiency syndrome. *J Pediatr Infect Dis.* 2011;6(3):159–66.

94. Kashani S, Carr TF, Grammer LC, Schleimer RP, Hulse KE, Kato A, et al. Clinical Characteristics of Adults With Chronic Rhinosinusitis and Specific Antibody Deficiency. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2015;3(2):236–42.
95. Song CH, Estevez D, Chernikova D, Hernandez F, Sakai-Bizmark R, Stiehm R. Low Baseline Pneumococcal Antibody Titers Predict Specific Antibody Deficiency, Increased Upper Respiratory Infections, and Allergy Sensitization. *Allergy Rhinol.* 2020;11:1–10.
96. Schaballie H, Wuyts G, Dillaerts D, Frans G, Moens L, Proesmans M, et al. Effect of previous vaccination with pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal polysaccharide vaccine antibody responses. *Clin Exp Immunol.* 2016;185(2):180–9.
97. Ekström N, Åhman H, Palmu A, Grönholm S, Kilpi T, Käyhty H. Concentration and high avidity of pneumococcal antibodies persist at least 4 years after immunization with pneumococcal conjugate vaccine in infancy. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20(7):1034–40.
98. Wysocki J, Brzostek J, Konior R, Panzer FG, François NA, Ravula SM, et al. Antibody persistence and immunologic memory in children vaccinated with 4 doses of pneumococcal conjugate vaccines: Results from 2 long-term follow-up studies. *Hum Vaccines Immunother.* 2017;13(3):661–75.

8. ANEXOS

8.1 Anexo 1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ASUNCIÓN
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA

CUESTIONARIO DE INVESTIGACIÓN

Proyecto: “Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes”

IMPORTANTE: Toda la información contenida en este cuestionario es estrictamente confidencial y su uso es exclusivo para el propósito de este proyecto.

Fecha:(dd/mm/aa)

Cuestionario N°:.....

DATOS PERSONALES (Información que será manejada sólo por el entrevistador e investigador principal)

1. Identificación del paciente:
2. Identificación del responsable del menor:
3. N° de teléfono para contacto (celular/línea baja):
4. Nombre del médico solicitante/tratante (hospital/otro dato):

DATOS DEMOGRÁFICOS

5. Edad:años

6. Sexo: Femenino Masculino

7. Procedencia: Asunción Central Interior

Especificar ciudad/Departamento:

8. Situación educativa actual (para niños en edad escolar):

Asiste normalmente a la escuela/colegio Ausencias frecuentes

Abandonó la escuela/colegio Especificar el motivo:

DATOS CLÍNICOS: Marcar con una X según la respuesta sea, 1. Si 2. No

9. Presencia de 2 veces o más en un año de las siguientes manifestaciones clínicas:

Sintomatología clínica	1. Si	2. No
Infecciones del tracto respiratorio superior (amigdalitis, faringitis y/o laringitis)		
Infecciones del tracto respiratorio inferior (bronquitis y/o neumonía)		
Infecciones del oído (otitis) y/o de senos paranasales (sinusitis)		
Inflamación/infección de ganglios (linfadenitis)		
Infección de piel con/sin absceso (forunculosis – “granos con pus”)		
Infecciones graves de tipo sepsis, meningitis, osteomielitis y/o absceso de órganos (en al menos una ocasión)		
Infecciones gastrointestinales (diarrea) y/o urinaria		
Uso de antibiótico intravenoso y/u hospitalización (en al menos una ocasión)		
Episodios de fiebre sin etiología (causa - foco) determinada		

* En caso de respuestas afirmativas, especificar encerrando la/s palabra/s que corresponda/n.

10. Presenta el paciente alguna enfermedad autoinmune diagnosticada? 1. Si 2. No
Artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, enfermedad celiaca, diabetes mellitus, otra. (Encerrar)

11. Presenta el paciente diagnóstico de alguna enfermedad alérgica? 1. Si 2. No
Asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica, alergia a alimentos, otra. (Encerrar).

12. Existe en la familia los siguientes antecedentes?

Antecedente familiar	1. Si	2. No
Consanguinidad		
Muerte infantil temprana (primeros 2 años de vida)		
Algún caso diagnosticado de inmunodeficiencia primaria		
Hermano/a con infecciones recurrentes		
Madre/padre y/o hermanos/as con enfermedad alérgica		
Madre con enfermedad autoinmune (lupus, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, otro)		

* En caso de respuestas afirmativas, especificar encerrando la/s palabra/s que corresponda/n

COMPLETAR LOS ESPACIOS (Otras variables clínicas)

13. Edad de inicio de las infecciones (mencionadas en el ítem 9):
14. Número (aproximado) de infecciones en un año:
15. Tipo de infección más frecuente:
16. Número (aproximado) de hospitalizaciones en un año:
17. Días (aproximado y en promedio) de hospitalización:
18. Número de veces que ha ingresado a UTI:
19. Actualmente ¿presenta el paciente algún diagnóstico confirmado o sospecha?
¿Cuál?.....
20. Se encuentra actualmente recibiendo algún tratamiento? ¿Cuál?.....
21. Datos de esquema de vacunación anti-neumocócica (según registro de vacunación del paciente):

Fecha	Edad	Dosis	Vacuna (PVC, PPV23)

8.2 Anexo 2

Valores de referencia para inmunoglobulinas séricas según el fabricante de las placas de inmunodifusión radial (Diffu-Plate, Biocientífica S.A, B.A - Argentina)

Rango de edad*	IgA (mg/dL)	IgG (mg/dL)	IgM (mg/dL)
1 – 2	22 - 130	350 - 1200	18 – 107
2 – 3	26 - 150	530 - 1220	20 – 108
3 – 9	30 - 240	610 - 1380	20 – 134
9 – 15	60 - 300	630 - 1400	30 – 148
> 15	90 - 310	710 - 1520	40 – 250

*: en años; mg/dL: miligramos por decilitro; >: mayor a

Valores de referencia para subclases de IgG séricas según el fabricante de las placas de inmunodifusión radial (Grupo Binding Site Ltd., Birmingham - UK)

Rango de edad*	IgG1 (mg/L)	IgG2 (mg/L)	IgG3 (mg/L)	IgG4 (mg/L)
2 – 4	3150 - 9450	360 - 2250	173 – 676	10 - 537
4 – 6	3060 - 9450	605 - 3450	99 – 1221	18 - 1125
6 – 8	2880 - 9180	440 - 3750	155 – 853	4 - 992
8 – 10	4320 - 10200	720 - 4300	127 – 853	19 - 932
10 – 12	4230 - 10600	760 - 3550	173 – 1730	16 - 1150
12 – 14	3420 - 11500	1000 - 4550	283 - 1250	37 - 1360
14 – 18	3150 - 8550	640 - 4950	230 - 1960	110 - 1570

*: en años; mg/L: miligramos por litro.

8.3 Anexo 3

HOJA INFORMATIVA DEL PROYECTO:

Proyecto de investigación: “Detección de deficiencia de anticuerpos específicos mediante la evaluación de la respuesta anti-neumococo en pacientes pediátricos con infecciones recurrentes”.

Investigador principal: B.C. Diana Sanabria, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) - UNA. Departamento de Inmunología. Teléfono de contacto: (0986) 440 810.

PROPÓSITO Y BENEFICIO (de forma verbal y escrita)

Propósito: Identificar casos de una enfermedad llamada deficiencia de anticuerpos específicos (SAD) que afecta las defensas del niño, es decir, su cuerpo no se defiende adecuadamente frente a las infecciones, sobre todo de una bacteria llamada neumococo, la cual puede causarle infecciones recurrentes del pulmón (neumonías), del oído (otitis), entre otras, por ello es muy importante conocer si el paciente produce anticuerpos (defensas) contra esta bacteria, antes y después de recibir una vacuna llamada PPV23 (Pneumo 23), la cual necesitamos aplicarle al niño como parte de un protocolo utilizado internacionalmente para diagnosticar dicha enfermedad, al mismo tiempo, se estará brindando al niño protección frente a 23 tipos del neumococo, una bacteria muy común en la comunidad como causante de infecciones graves. Es muy importante realizar este estudio a un paciente con infecciones recurrentes, para poder diagnosticar lo antes posible esta enfermedad, de manera a que el paciente pueda recibir un tratamiento que mejore su calidad de vida.

Beneficio: el estudio será gratuito y los resultados serán entregados en un tiempo máximo de 6 (seis) semanas, ya que debemos vacunarlos y medir de nuevo sus anticuerpos 4 semanas después. La vacunación también será gratuita, ya que se realizará en el hospital público donde el niño sea evaluado por el médico especialista.

Con estos resultados, el médico podrá descartar o establecer una deficiencia de su sistema inmune y en caso de confirmarse, el niño podrá recibir un tratamiento que mejorará la frecuencia y la gravedad de sus infecciones. Los riesgos son la extracción de sangre (3 mL) y la vacunación, que serán realizados con técnicas seguras y por personal capacitado. El niño podría eventualmente presentar después de la vacunación manifestaciones leves como hinchazón en el sitio, fiebre, dolor de cabeza, fatiga, para controlar y minimizar estos efectos, el médico ya proveerá las medidas necesarias en el momento de indicar la vacuna.

INFORMACIÓN ADICIONAL (de forma verbal y escrita)

Participación voluntaria: Queda claramente establecido que, la participación del menor a su cargo en este estudio es totalmente voluntaria, Usted es libre de negarse a participar, así como de rehusarse a responder cualquier pregunta. Puede solicitar información en cualquier momento del estudio, teniendo derecho a recibir respuestas que satisfagan sus inquietudes.

Confidencialidad: La información recolectada en el estudio será manejada únicamente por los investigadores. Todos los datos de Usted y el menor serán resguardados con absoluta confidencialidad.

8.5 Anexo 5

Datos de edad, sexo y niveles séricos de anticuerpos de los 42 pacientes pediátricos con infecciones recurrentes evaluados en el estudio

N°	Edad	Sexo	IgA (mg/dL)	IgG (mg/dL)	IgM (mg/dL)	Anti-neumo*	Anti-neumo**	Post/pre	Dosis PCV
1	2	M	65,6	686,6	120,3	52,9	227,9	4,3	3
2	4	M	16,9	841,8	159,7	88,0	340,9	3,8	2
3	5	F	138,4	950,1	146,2	73,5	408,6	5,5	3
4	17	F	203,4	881,5	213,5	<u>7,6</u>	<u>37,7</u>	4,9	sd
5	7	F	8,6	316,2	47,4	28,8	<u>53,4</u>	1,8	2
6	4	F	64,9	737,3	96,2	92,6	315,0	3,4	3
7	6	M	146,5	948,1	102,3	77,1	398,1	5,1	3
8	11	F	58,4	789,1	90,4	88,1	276,1	3,1	sd
9	8	F	130,3	686,6	241,8	49,9	412,7	8,2	3
10	16	M	108,8	950,1	180,8	<u>164,5</u>	341,7	<u>2,0</u>	sd
11	2	F	31,5	588,1	146,2	74,7	309,5	4,1	3
12	3	M	85,8	841,8	173,7	32,8	281,2	8,5	4
13	6	F	171,9	895,5	108	<u>18,7</u>	260,0	13,9	3
14	4	M	45,8	895,6	96,2	<u>25,4</u>	325,4	12,8	3
15	4	M	107,2	540,3	96,2	<u>17,5</u>	213,3	12,1	3
17	13	M	111	1238,3	141	<u>160,4</u>	247,1	<u>1,5</u>	sd
18	4	F	57,4	950,1	166,6	<u>2,3</u>	<u>173,5</u>	77,1	3
19	6	M	255,4	1298,9	146,1	27,5	224,8	8,1	3
20	10	F	133,2	737,3	120,3	<u>20,9</u>	<u>113,9</u>	5,4	sd
21	2	F	16,3	524,5	103	44,3	261,5	5,9	3
22	5	M	94,2	997,5	190,2	57,6	258,6	4,4	3
23	2	M	48	673,3	68,9	33,4	271,5	8,1	3
24	4	F	102,5	830,6	331,5	38,8	280,5	7,2	3
25	3	F	40,9	724,5	147,7	<u>17,2</u>	313,0	18,1	3
26	2	F	34	777,1	134,4	<u>9,4</u>	223,7	23,8	3
27	8	F	94,2	430,6	228,5	<u>168,7</u>	348,2	<u>2,0</u>	3
28	2	M	34	830,6	121,5	<u>25,1</u>	351,7	14,0	3
29	6	M	156	673	220,7	78,5	459,3	5,8	3
30	5	M	128,5	940,8	127,9	49,2	236,9	4,8	3
31	7	F	175,3	885,2	182,8	73,1	452,6	6,1	3
32	5	M	86	524,5	109,1	55,3	394,6	7,1	4
33	5	F	102,5	940,8	269,6	<u>16,2</u>	337,2	20,7	3
34	2	M	40,9	885,2	161,4	42,1	252,9	5,9	3
35	5	M	156	1553,1	127,9	53,0	347,6	6,5	2

N°	Edad	Sexo	IgA (mg/dL)	IgG (mg/dL)	IgM (mg/dL)	Anti- neumo*	Anti- neumo**	Post/ pre	Dosis PCV
36	8	F	94,2	997,5	190,2	8,3	174,5	20,9	2
37	2	M	40,9	940,8	134,4	13,8	175,0	12,6	2
38	3	M	34	830,6	127,9	70,1	423,5	6,0	3
39	17	M	82,1	1234,2	121,5	37,5	411,2	10,9	sd
41	10	M	78,1	908	131	64,3	391,7	6,09	sd
42	2	F	27,3	192,3	59,3	20,9	427,3	20,3	3
43	4	M	40,9	1074	53,6	13,6	259,9	19,0	3
44	17	F	329,6	963	104	67,7	263,2	3,8	sd

M: masculino; F: femenino; *: anticuerpos anti-neumococo pre-inmunización en mg/L; **: anticuerpos anti-neumococo post-inmunización en mg/L; Post/pre: incremento post/pre-inmunización de anticuerpos anti-neumococo; PCV: vacuna polisacárida neumocócica conjugada; sd: sin dosis previas de PCV. En color gris, los valores de anticuerpos pre-inmunización inferiores a 27,5 mg/L y los valores post-inmunización de pacientes que podrían verse afectados por los puntos de corte utilizados; subrayados, los valores pre-inmunización superiores a 110 mg/L; en negritas y subrayados, las tres respuestas deficientes de anticuerpos anti-neumococo post-inmunización.