

## Anticuerpos naturales IgG e IgA frente a antígenos polisacáridicos de neumococo en adultos con neumonía adquirida en la comunidad en la era de la vacuna conjugada

A. Payeras<sup>1</sup>, A. Cambra<sup>2</sup>, M. Peñaranda<sup>3</sup>, A. Serra<sup>2</sup>, J. Milà<sup>2</sup>, M. Riera<sup>3</sup>

1- Servicio de Medicina Interna. Hospital Son Llàtzer

2- Servicio de Inmunología. Hospital Son Dureta

3- Sección de Infecciosas. Hospital Son Dureta

### Resumen

Se determinaron los títulos de anticuerpos naturales IgG e IgA específicos frente a los polisacáridos capsulares de neumococo incluidos en la vacuna conjugada (PCV-7) y contra 4 serotipos emergentes en España (mediante un test de ELISA de tercera generación) durante la fase aguda de un episodio de neumonía adquirida en la comunidad neumocócica (NACN) en 40 pacientes adultos. Se obtuvieron muestras de 2 grupos control sanos (<65 años y  $\geq$  65 años), y también en 8 pacientes con NACN, en los que se conocía el serotipo responsable, durante la fase de convalecencia.

Casi todos los pacientes con NACN mostraron títulos de IgG  $\geq$  1 mg/ml frente a todos los serotipos de PCV-7, pero el porcentaje de pacientes con niveles de IgG <1 mg/mL frente a los serotipos emergentes 1, 3 y 7F fue de 47,5%, 55% y 45%, respectivamente. Los títulos de IgG en pacientes <65 años fueron más altos que los correspondientes controles sanos para la mayoría de serotipos (1, 4, 14, 19F, 23F, 6B y 18C) aunque en el grupo de personas de más edad estas diferencias tendieron a desaparecer. Los niveles de IgG específica en la fase de convalecencia, sólo aumentaron en la mitad de los pacientes después del episodio agudo. Sólo se observaron correlaciones anecdóticas entre las IgG e IgA específicas de cada serotipo.

Se concluye que el porcentaje de pacientes con NACN que mostraron niveles de anticuerpos IgG específicos teóricamente protectores frente a los serotipos incluidos en la PCV-7 es elevado, pero es menor frente a algunos serotipos emergentes. Sin embargo, los niveles de anticuerpos naturales específicos, no son buenos predictores del riesgo de desarrollar NACN y las respuestas serológicas después de la NACN son variables.

**Palabras clave:** *Streptococcus pneumoniae*; neumonía adquirida en la comunidad; anticuerpos naturales; IgG; IgA; vacuna neumocócica conjugada.

### Abstract

Natural serotype-specific IgG and IgA to the pneumococcal capsular polysaccharides included in the conjugate vaccine (PCV-7) and against 4 emerging serotypes in Spain were determined (a third-generation ELISA was used) during the acute phase of a community-acquired pneumococcal pneumonia (CAPP) episode among 40 adult patients. Another sample was obtained for 2 healthy control groups (<65 years and  $\geq$ 65 years), and for 8 patients with CAPP, in whom the pathogenic serotype was known, during the convalescence phase.

Almost all the patients with CAPP had IgG titers  $\geq$ 1  $\mu$ g/mL to all PCV-7 serotypes, but the percentages of patients with IgG levels <1  $\mu$ g/mL for the emerging serotypes 1, 3 and 7F were 47.5%, 55% and 45% respectively. IgG titers in patients <65 years were higher than the corresponding healthy controls for many serotypes (1, 4, 14, 19F, 23F, 6B and 18C), although in elderly these differences tended to disappear. Serotype-specific IgG titers in the convalescence phase rose only in the half of patients after the acute episode. Only anecdotal correlations were observed between serotype-specific IgG and IgA.

We conclude that the percentage of patients with CAPP that showed levels theoretically protective of natural serotype-specific IgG antibodies to the majority of PCV-7 serotypes is high, but it is lower against some emerging ones. However, natural serotype-specific antibody levels, are not good predictors of the risk to develop CAPP and serological responses after CAPP are variable.

**Keywords:** *Streptococcus pneumoniae*; community-acquired pneumonia; natural antibodies; IgG; IgA; pneumococcal conjugate vaccine.

## Introducción

*Streptococcus pneumoniae* es el agente etiológico principal de la neumonía adquirida en la comunidad en pacientes adultos<sup>1</sup> y afecta, especialmente, a ciertos grupos de riesgo como los ancianos y pacientes con enfermedades respiratorias subyacentes, como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o asma<sup>2-4</sup>.

Después de la introducción de la vacuna conjugada heptavalente (PCV-7) en los EEUU, se han descrito cambios en la epidemiología de los diferentes serotipos de neumococo, consistentes en la disminución del estado de portador nasofaríngeo y la incidencia de enfermedad neumocócica invasiva (ENI), por los serotipos contenidos en la PVC-7, en niños vacunados pero también en la incidencia global<sup>5-9</sup>. Debido a la vacunación masiva de niños con PCV-7 se observa la proliferación de nuevos serotipos emergentes como consecuencia de un fenómeno de sustitución o de cambio capsular<sup>6,7</sup>.

Tras la aprobación de la PCV-7 por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), esta vacuna se comercializa en España desde junio de 2001, pero el Sistema Nacional de Salud español sólo financia su uso para indicaciones restringidas<sup>10</sup>.

La eficacia de la vacuna neumocócica dependerá de los serotipos circulantes y el estado inmunológico de la población. La medición del nivel de anticuerpos específicos contra los polisacáridos capsulares de neumococo (PCN), con el fin de conocer el estado serológico de las poblaciones en riesgo, podría ser otra herramienta para determinar el impacto potencial de las políticas de vacunación sobre la epidemiología de las infecciones neumocócicas. Estos valores serológicos pueden estar influidos no sólo por la vacunación, sino también por factores como la edad, otras enfermedades crónicas, estados de inmunodeficiencia, el estado de portador nasofaríngeo o episodios anteriores de ENI<sup>11-14</sup>. Hay pocos datos disponibles sobre niveles de anticuerpos naturales serotipo específicos anti-PCN en personas en situación de riesgo o con neumonía adquirida en la comunidad neumocócica (NACN), y los estudios son anteriores o realizados durante los primeros años después de la vacunación masiva de la población pediátrica con PCV-7<sup>11-15</sup>.

El estudio de las respuestas serológicas a la vacuna de neumococo se han centrado generalmente en la

determinación de las respuestas de anticuerpos IgG específicos contra diferentes PCN, en cambio se han estudiado menos las respuestas IgA específicas, aunque los anticuerpos IgA reaccionan con el PCN y pueden activar el complemento, favoreciendo la opsonofagocitosis de las bacterias<sup>16</sup>.

El objetivo del presente estudio fue determinar los niveles de anticuerpos naturales IgG específicos frente a los PCN incluidos en la PCV-7 y frente a otros 4 serotipos emergentes en España, en adultos con NACN, con especial atención a pacientes ancianos o con enfermedades respiratorias crónicas subyacentes. Otros objetivos fueron evaluar el porcentaje de pacientes con niveles de anticuerpos IgG específicos por encima de un punto de corte considerado teóricamente como protector (1 mg/mL) y, finalmente, determinar los niveles de anticuerpos IgA serotipo específicos anti-PCN en suero frente a los mismos serotipos y conocer la relación entre ambas clases de inmunoglobulinas.

## Pacientes y Métodos

### Pacientes:

En el estudio participaron 40 pacientes adultos ( $\geq 18$  años) con un episodio microbiológicamente bien documentado del NACN, desde enero de 2004, atendidos en los servicios de urgencias del Hospital de Son Dureta y el Hospital Son Llàtzer en Mallorca (España).

El diagnóstico de neumonía se basó en la presencia de signos y o síntomas de infección respiratoria adquirida en la comunidad junto con una condensación radiológica. Los criterios microbiológicos fueron: 1) al menos un hemocultivo o cultivo de líquido pleural positivo para *Streptococcus pneumoniae*, 2) un cultivo de esputo positivo para *Streptococcus pneumoniae* además de una determinación positiva de antígenuria, o 3) una recuento bacteriano significativo en los casos en que se realizó broncoscopia.

Se obtuvo una muestra de sangre (suero de fase aguda) después del diagnóstico microbiológico. Cuando un paciente con NACN no cumplía criterios de ingreso hospitalario se citó telefónicamente a la consulta externa ambulatoria para obtener la muestra de sangre. En cada episodio se registraron las características demográficas y clínicas.

En 8 pacientes los correspondientes aislamientos fueron enviados al Laboratorio Nacional de Referencia Español de Neumococos (Instituto de Salud Carlos III, Madrid), para serotipado y se extrajo además una muestra en fase de convalecencia, 4 semanas después de la resolución del episodio agudo. En cada una de las muestras se determinaron IgG e IgA específicas frente a cada uno de los 8 serotipos de cada paciente.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes: administración anterior de cualquier vacuna neumocócica, infección nosocomial, inmunodeficiencias primarias (se realizaron pruebas inmunológicas de rutina para evaluar el estado inmunológico de cada paciente), infección VIH, pacientes fallecidos antes del diagnóstico microbiológico, pacientes incapaces de seguir control ambulatorio en la fase aguda y aquellos que se negaron a firmar el consentimiento informado. Para los pacientes con episodios de neumonía recurrente, se consideró sólo el primero.

Se estudiaron además dos grupos control (<65 años y  $\geq 65$  años) compuestos por 22 individuos, todos ellos atendidos en los servicios de urgencias por traumas menores, sin un diagnóstico previo o actual de enfermedad respiratoria subyacente.

#### Pruebas de laboratorio:

La medición de las IgG e IgA específicas frente a cada serotipo se realizó mediante un ELISA tipo "sándwich" de tercera generación como se describe en la literatura <sup>17</sup>.

#### Aspectos éticos:

Todos los pacientes e individuos control firmaron un consentimiento informado y el estudio fue aprobado por el Comité de Ética y Ensayos Clínicos de la Comunitat Autònoma de les Illes Balears.

#### Análisis estadístico:

Se realizó un análisis descriptivo de las características demográficas y clínicas de la población del estudio. Las medias y desviaciones estándar de las IgG e IgA específicas se calcularon para toda la población, para los pacientes con < 65 y  $\geq 65$  años, para aquellos con o sin enfermedades respiratorias de base y para los dos grupos control. Se calcularon los porcentajes de pacientes en cada grupo con IgG específica  $\geq 1$  mg/ml frente a cada serotipo. Se utilizó la prueba de chi cuadrado, con el test de Fisher cuando fue necesario, para comparar las variables cualitativas. La

comparación de las variables cuantitativas se realizó mediante pruebas no paramétricas (U de Mann-Whitney). El análisis de correlación para establecer el tipo de relación entre los niveles de IgG e IgA se hizo mediante el cálculo del coeficiente de Pearson.

Todo el análisis se llevó a cabo con el paquete estadístico SPSS 15.0 para Windows.

## Resultados

### Características clínicas e inmunológicas de los pacientes con NACP:

Las características demográficas, clínicas y microbiológicas de la población del estudio se resumen en la Tabla 1. Los resultados de las medias de los valores de IgG específica frente a cada serotipo para toda la población de pacientes con NACP, y el número de pacientes con los valores de IgG específica  $\geq 1$  mg/ml se muestran en la Tabla 2. Los mayores niveles promedio de anticuerpos IgG específicos se observaron para los serotipos 6B, 23F y 19F, con todos los pacientes, excepto uno, presentando niveles de IgG  $\geq 1$  mg/mL. Las medias de los valores de IgG menores fueron para los serotipos 7F y 3. La proporción mayor de pacientes con niveles de IgG específica <1 mg/mL se observó en los serotipos 1, 3 y 7F (47,5%, 55% y 45% respectivamente). Las medias de los títulos de IgG mostraron una tendencia a ser mayores en el grupo de casos  $\geq 65$  años en los serotipos 4, 5, 19F, 23F, 6B, 18C y 9V y en los casos <65 años para los serotipos 1, 3, 14, 7F, pero estas diferencias no alcanzaron significación estadística (Tabla 3), de la misma forma que el porcentaje de individuos en cada grupo con niveles de IgG específica <1 mg/mL (Figura 1).

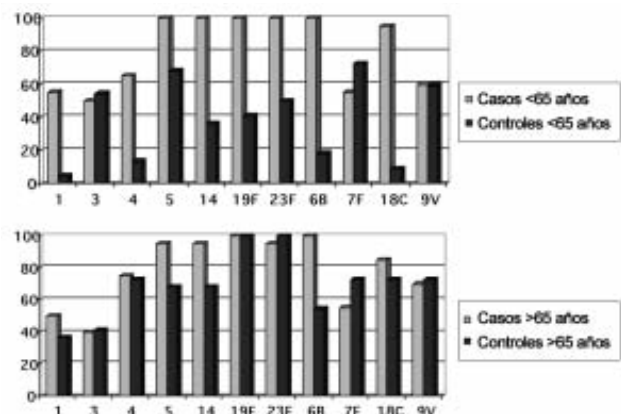


Figura 1: Porcentaje de casos y controles < 65 años (grafico superior) y  $\geq 65$  años (gráfico inferior) con niveles de IgG específicos superiores a 1 µg/mL para cada serotipo.

Variable	Valor
<b>1-Grupo de casos con NACN:</b>	
Sexo (varón/mujer)	24 (60%)/16 (40%)
Mediana de edad (rango)	64,5 (22-96) años
Edad>65 años	20 (50%)
Espuito(positivo)	15 (37,5%)
Antigenuria en orina (positiva)	22 (55%)
Bacteriemia	25 (62,5%)
<b>Clase de Fine</b>	
I	8 (20%)
II	1 (2,5%)
III	6 (15%)
IV	23 (57,5%)
V	2 (5%)
<b>Enfermedades respiratorias</b>	
EPOC	13 (32,5%)
Bronquitis y sinusitis recurrente	14 (35%)
Asma	4 (10%)
Neumonía bacteriana (episodio previo)	6 (15%)
Fumadores (activos)	16 (40%)
<b>Otras comorbilidades</b>	
Insuficiencia cardiaca	6 (15%)
Diabetes mellitus	5 (12,5%)
Enfermedad renal crónica	2 (5%)
Otros <sup>a</sup>	2 (5%)
Enolismo (activo)	8 (20%)
<b>2-Grupo control &lt;65 años:</b>	
Sexo (varón/mujer)	11 (50%)/11 (50%)
Mediana de edad (rango)	40 (27-61) años
<b>3-Grupo control ≥65 años:</b>	
Sexo (varón/mujer)	12 (54,5%)/10 (45,5%)
Mediana de edad (rango)	77,5 (69-89) años

<sup>a</sup> Incluye 1 caso de hepatopatía y 1 caso de tratamiento crónico con esteroides.

Tabla 1. Características generales de los pacientes con neumonía adquirida en la comunidad neumocócica (NACN) y de ambos grupos control.

**Comparación de los niveles de anticuerpos IgG específicos en casos y controles:**

Para los serotipos 1, 4, 5, 14, 19F, 23F, 6B, 18C y 19V los niveles medios de anticuerpos IgG específicos tendieron a ser mayores para los pacientes con enfermedades respiratorias subyacentes (Tabla 4), pero una vez más estas diferencias no alcanzaron significación estadística. Tampoco los porcentajes de pacientes con niveles de anticuerpos IgG específicos de  $\geq 1$  mg / mL mostraron diferencias entre los pacientes con o sin patología respiratoria de base

Serotipo	IgG ( $\mu\text{g/mL}$ ) Media (DE)	IgG>1 $\mu\text{g/mL}$ (%)	IgA ( $\mu\text{g/mL}$ ) Media (DE)
1	2,59 (3,68)	21 (52,5)	0,71 (2,84)
3	1,67 (2,01)	18 (45)	2,69 (2,16)
4	2,24 (2,62)	28 (70)	1,38 (1,58)
5	3,91 (2,53)	39 (97,5)	1,29 (1,29)
14	4,3 (2,58)	39 (97,5)	1,27 (1,89)
19F	7,57 (6,18)	40 (100)	3,89 (7,46)
23F	7,88 (11,83)	39 (97,5)	5,75 (6,32)
6B	11,6 (6,8)	40 (100)	1,15 (1,21)
7F	1,35 (1,63)	22 (55)	0,70 (0,85)
18C	3,5 (2,7)	36 (90)	1,05 (1,45)
9V	2,05 (1,88)	26 (65)	3,28 (3,09)

Tabla 2. Medias de los valores de anticuerpos IgG e IgA específica en fase aguda, frente a cada serotipo para toda la población de pacientes con NACN y número de pacientes con niveles de IgG específica superiores al límite considerado como protector ( $>1 \mu\text{g/mL}$ ).

Serotipo	Casos<65 años (n=20) Media (DE)	Controles<65 años (n=22) Media (DE)	P1:	Casos $\geq$ 65 años (n=20) Media (DE)	Controles $\geq$ 65 años (n=22) Media (DE)	P2:
1	3,20 (4,29) / 1,14 (3,95)	0,53 (0,51) / 0,17 (0,10)	0,03 / NS	1,99 (2,94) / 0,25 (0,31)	1,88 (2,18) / 0,38 (0,32)	NS / NS
3	1,89 (2,09) / 3,04 (2,28)	3,26 (6,57) / 0,58 (0,62)	NS / <0,001	1,44 (1,95) / 2,33 (2,03)	1,17 (1,38) / 2,83 (7,44)	NS / NS
4	2,01 (2,52) / 1,53 (2,03)	0,64 (0,71) / 0,65 (0,43)	0,001/0,02	2,47 (2,77) / 1,22 (0,92)	5,08 (5,98) / 1,07 (1,32)	NS / NS
5	3,69 (2,09) / 1,44 (1,57)	8,41 (15,09) / 0,50 (0,37)	NS / 0,001	4,12 (2,95) / 1,13 (0,94)	9,82 (9,44) / 0,75 (0,69)	NS / NS
14	4,68 (2,99) / 1,77 (2,51)	1,95 (3,11) / 0,31 (0,38)	<0,001/ <0,001	3,91 (2,11) / 0,74 (0,61)	2,19 (2,04) / 0,57 (0,48)	0,005 / NS
19F	5,96 (2,62) / 5,39 (10,14)	3,83 (7,76) / 0,68 (0,45)	0,001 / <0,01	9,19 (8,13) / 2,31 (1,94)	12,84 (11,03) / 1,34 (1,34)	NS / NS
23F	8,14 (7,16) / 6,76 (10,60)	5,60 (9,65) / 0,55 (0,36)	0,01 / <0,01	9,63 (15,15) / 4,7 (5,04)	11,97 (9,84) / 2,39 (3,45)	NS / 0,04
6B	10,78 (5,93) / 1,48 (1,50)	0,92 (1,47) / 0,60 (0,41)	<0,001 / NS	12,42 (7,64) / 0,80 (0,67)	3,00 (4,70) / 0,50 (0,29)	<0,001 / NS
7F	1,53 (2,15) / 0,86 (1,10)	3,66 (4,15) / 0,38 (0,23)	0,04 / NS	1,17 (0,86) / 0,53 (0,46)	10,38 (8,64) / 0,31 (0,28)	<0,001 / 0,04
18C	3,39 (2,70) / 1,23 (1,88)	0,40 (0,49) / 0,05 (0,04)	<0,001 / <0,001	3,61 (2,76) / 0,86 (0,80)	5,49 (7,35) / 0,15 (0,12)	NS / <0,001
9V	1,80 (1,93) / 3,18 (3,41)	3,38 (5,63) / 0,63 (0,40)	NS / <0,001	2,30 (1,83) / 3,39 (2,81)	8,58 (8,47) / 1,21 (1,27)	0,01 / <0,001

Tabla 3. Medias de los niveles de anticuerpos IgG e IgA específicos en casos y controles ( $< \geq 65$  años), frente a todos los serotipos analizados. Valores de P1 y P2.

(Figura 2). Los niveles de anticuerpos IgG específicos para los casos  $<65$  años fueron significativamente superiores a los correspondientes controles  $<65$  años para la mayoría de los serotipos 1, 4, 14, 19F, 23F, 6B y 18C, y sólo para el serotipo 7F esos niveles fueron significativamente superiores en los controles (Tabla 3). El porcentaje de casos  $<65$  años, con valores específicos IgG  $\geq 1$  mg/mL, fue significativamente más alto para los serotipos 1, 4, 5, 14, 19F, 23F, 6B y 18 C (Figura 1). Cuando se compararon los casos y los controles de  $\geq 65$  años, estas diferencias tuvieron tendencia a desaparecer, siendo la excepción los serotipos 14 y 6B. Una vez más, los niveles de anticuerpos para el serotipo 7F fueron superiores en los controles y también en este caso los niveles de IgG frente al serotipo 9V (Tabla 3). Los porcentajes de casos y controles  $\geq 65$  años con valores de IgG  $\geq 1$  mg/ml frente a cada serotipo se muestran en la Figura 1.

**Relación entre los niveles de anticuerpos IgG e IgA:**

Los valores de IgA específica en la población general y en cada grupo se muestran en las tablas 2, 3 y 4. Las medias de anticuerpos IgA frente a todos los serotipos, a excepción de serotipo 9V, mostraron una tendencia a ser mayores en los casos  $<65$  años. Al comparar con los controles correspondientes alcanzó significación estadística para 3, 4, 5 14, 19F, 23 F, 18C y 9V. En los dos grupos de edad los títulos de IgA fueron significativamente mayores en los casos para los serotipos 23F, 18C, 9V, pero también para el 7F (Tabla 3).

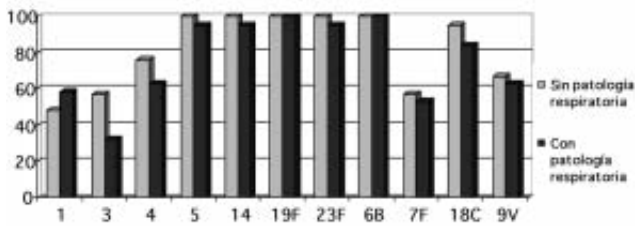


Figura 2: Porcentaje de pacientes sin y con patología respiratoria de base con niveles de IgG específicos superiores a 1 µg/mL para cada serotipo.

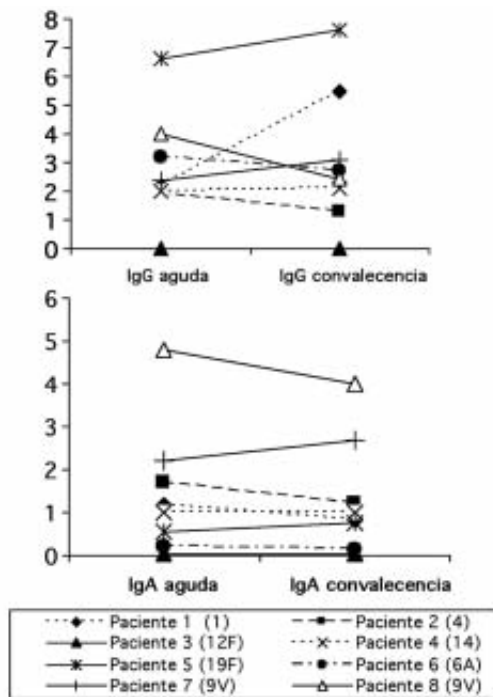


Figura 3: Niveles de anticuerpos IgG e IgA específicos, durante la fase aguda y de convalecencia en los pacientes con serotipo de neumococo conocido.

Los pacientes sin patología respiratoria mostraron una tendencia a tener un aumento de las medias de niveles de anticuerpos IgA específicos para todos los serotipos, en comparación con los pacientes con enfermedades pulmonares subyacentes (Tabla 4).

Sólo se observó una correlación positiva entre las IgG e IgA específicas para los siguientes grupos y serotipos: casos <65 años para los serotipos 1 (coeficiente de Pearson 0,47, p = 0,03), 23F (coeficiente de Pearson 0,46, p = 0,04) y 6B (Pearson coeficiente de 0,46, p = 0,03); controles <65 años para los serotipos 3 (coeficiente de Pearson 0,65, p = 0,001) y 14 (coeficiente de Pearson 0,52, p = 0,01); controles de ≥ 65 años para el serotipo 5 (coeficiente de Pearson 0,54, p = 0,02), y los casos sin enfermedad respiratoria de

Serotipo	Sin patología respiratoria (n=21)	Con patología respiratoria (n=19)	P:
IgG (µg/mL)	Media (DE)	Media (DE)	
IgA (µg/mL)	Media (DE)	Media (DE)	
1	2,38 (3,81)	2,83 (3,84)	NS
	1,14 (3,85)	0,20 (0,17)	NS
3	1,67 (1,69)	1,67 (2,36)	NS
	3,04 (2,19)	2,29 (2,12)	NS
4	1,98 (1,44)	2,52 (3,53)	NS
	1,52 (1,96)	1,21 (0,99)	NS
5	3,81 (2,11)	4,02 (2,99)	NS
	1,46 (1,07)	1,09 (0,87)	NS
14	4,42 (2,83)	4,15 (2,2)	S
	1,77 (2,37)	0,68 (0,87)	NS
19F	7,04 (4,79)	8,17 (7,53)	NS
	5,81 (9,79)	1,65 (1,34)	NS
23F	5,98 (8,31)	9,99 (15,82)	NS
	7,48 (10,81)	3,73 (3,06)	NS
6B	11,12 (8,08)	12,12 (7,66)	NS
	1,36 (1,37)	0,92 (0,97)	NS
7F	1,50 (2,08)	1,19 (0,94)	NS
	0,90 (1,09)	0,47 (0,35)	NS
18C	2,85 (1,6)	4,22 (3,45)	NS
	1,35 (1,82)	0,69 (0,75)	NS
9V	1,96 (1,96)	2,15 (2,22)	NS
	3,67 (3,35)	2,59 (2,69)	NS

Tabla 4. Medias de los niveles de anticuerpos IgG e IgA específicas entre los pacientes con y sin patología respiratoria de base para todos los serotipos analizados.

base para el serotipo 1 (coeficiente de Pearson 0,57, p = 0,006).

**IgG e IgA específicas en los pacientes con serotipo conocido y suero de fase aguda y convalecencia:**

Los serotipos responsables de la NACN en los 8 casos con muestras de suero en fase aguda y de convalecencia fueron: 1, 4, 12F, 14, 19F, 6A, y 9V (2 casos).

Todos, excepto el paciente infectado por el serotipo 12F, tenían un nivel de anticuerpos IgG específicos ≥ 1 mg/mL en fase aguda. Sólo en 4 pacientes (infectados por los serotipos 1, 14, 19F y 9V) el título de anticuerpos IgG específicos en el suero de convalecencia aumentó, pero únicamente el paciente infectado por el serotipo 1 duplicó el valor basal. En los restantes 4 casos, el valor basal, se mantuvo estable o incluso mostró una tendencia a disminuir (Figura 3).

Tres pacientes mostraron un aumento de los niveles de IgA en la fase de convalecencia, y sólo 1 de ellos (infectado por el serotipo 12F) duplicó el título de fase aguda. Sin embargo, en ese caso, tanto los valores de fase aguda como los de convalecencia (Figura 3), fueron muy bajos (0,02 y 0,04 mg/mL respectivamente).

## Discusión

En este estudio de pacientes adultos no vacunados con NACN, después de la autorización de la PCV-7, se observó que en la mayoría de ellos los niveles séricos de anticuerpos naturales IgG específicos fueron, en general, altos para casi todos los serotipos incluidos en la PCV - 7, especialmente para 6B, 23F y 19F. Considerando un nivel de IgG  $\geq 1$  mg/ml como protector, la mayoría de los pacientes con NACN mostraron estar protegido de forma natural contra la mayoría de los serotipos de la vacuna, con un menor porcentaje para los serotipos 4 y 9V.

Aunque la PCV-7 no se recomienda para niños sanos en España, su uso se ha generalizado entre los niños menores de 2 años, porque la mayoría de los pediatras en base a los datos publicados y, a propuesta de la Asociación Española de Pediatría ha recomendado la vacunación <sup>18</sup>. Sin embargo, se estima que el número de niños vacunados en Mallorca ha sido bastante bajo, según los datos facilitados por la Dirección General de Farmacia, Conselleria Salut i Consum (Govern Balear), la tasa de vacunación en el período 2002-2007 fue de 112,3 vacunas/1000 niños menores de 5 años aumentando al final del periodo a 246/1000. Si aceptamos 1 mg/mL como título protector, y teniendo en cuenta que la mayoría de los pacientes con NACN en nuestra población, mostraron niveles altos de anticuerpos IgG específicos para la mayoría de los serotipos de la PCV-7, parece poco probable que la vacunación masiva de la población pediátrica tuviera un impacto significativo sobre el riesgo de NACN en pacientes adultos. Esto contrasta con observaciones de otros estudios en que la vacunación masiva de la población pediátrica con la vacuna PCV-7 dio lugar a una disminución de la tasa de ENI en pacientes ancianos <sup>6,7</sup>.

En los grupos de individuos más jóvenes al comparar casos y controles, tanto los niveles medios de anticuerpos IgG como en el porcentaje de individuos con los niveles basales de IgG  $\geq 1$  mg/mL fueron superiores para los casos en 6 de los 7 serotipos de la vacuna, pero estas diferencias mostraron una tendencia a desaparecer en los grupos de mayor edad. Aunque este hallazgo contrasta con observaciones anteriores <sup>19-22</sup>, las diferencias en el grado de exposición a los PCN, durante toda la vida, probablemente más alta entre los pacientes con NACN, podría ser una explicación para este hallazgo. Hay varios mecanismos involucrados en la adquisición de anticuerpos naturales contra los diferentes serotipos de neumococo.

Aunque un estudio preliminar, utilizando una técnica sin absorción previa del PCN del serotipo 22F, no encontró ninguna relación entre el estado de portador nasofaríngeo y el incremento de anticuerpos IgG específicos <sup>23</sup>, esta hipótesis es admisible en base de un estudio prospectivo que incluyó a niños en edad preescolar y sus respectivas familias <sup>12</sup>, entre militares <sup>13</sup>, y en una cohorte española de niños con enfermedades pulmonares crónicas subyacentes o recurrentes <sup>14</sup>. Episodios anteriores de infección de las vías respiratorias o ENI pueden contribuir al perfil inmunológico en diferentes situaciones clínicas. Un aumento del título de IgG frente al PCN del serotipo infectante se observó en 63% de los pacientes tras un episodio de la neumonía neumocócica, tasa de respuesta que fue similar a la de individuos control después de la vacunación neumocócica <sup>11</sup>. Menos probable es la existencia de reacciones cruzadas con polisacáridos de diferentes bacterias como estafilococos <sup>24</sup>.

Es importante destacar que en 3 de los serotipos emergentes en España (1, 3 y 7F) el porcentaje de pacientes teóricamente protegidos fue menor, siendo la excepción del serotipo 5. Los adultos hospitalizados por ENI en Barcelona durante tres periodos diferentes (antes de la PCV-7 y en fase temprana o tardía tras la generalización de la PCV-7) se observó un aumento en la incidencia de las infecciones causadas por los serotipos no incluidos en la PCV-7, principalmente 1, 5, 7F, 12F, 19A, 22F y 24 <sup>25</sup>. Algunos de estos serotipos pueden ser más agresivos, como lo demuestra el incremento de empiema paraneumónico pediátrico observado en España, principalmente debido a los serotipos no incluidos en la PCV-7, en especial el serotipo 1 <sup>26</sup>. En nuestro medio también se observó un aumento del porcentaje de adultos con NACN que desarrollaron empiema paraneumónico, desde el 2,3% en el período 2001-2002 al 6,4% en 2006-2007 ( $p < 0,05$ ), aunque no disponemos de datos sobre los serotipos responsables (datos no publicados). Está por determinar el papel de las nuevas vacunas conjugadas (9 -, 11 - y 13-valentes) sobre la epidemiología de la ENI, ya que incluyen algunos de estos serotipos emergentes.

Cabe destacar que los pacientes con enfermedades respiratorias subyacentes tenían niveles más altos de anticuerpos IgG específicos para todos los PCN incluidos en la vacuna conjugada y dos de los emergentes (serotipos 1 y 5). La explicación más plausible es una mayor exposición antigénica, debido a infecciones neumocócicas recurrentes.

La ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con y sin trastornos respiratorios, no se pudo explicar por factores como la edad, el sexo, el tabaco, el consumo de alcohol, NACN anterior u otras comorbilidades (datos no mostrados). Aunque no tenemos datos sobre el uso intermitente de corticosteroides para todos los pacientes, dado que la mayoría de ellos eran pacientes con EPOC o asma, se puede especular que una discreta hipogammaglobulinemia secundaria, inducida farmacológicamente, podría ser en parte responsable de la ausencia de diferencias significativas.

Se observó que los pacientes jóvenes tendían a tener niveles medios más elevados de IgA específicas para todos los serotipos que los correspondientes controles jóvenes, ancianos y personas con enfermedad pulmonar subyacente. También es de destacar que en el análisis de correlación sólo se observaron relaciones anecdóticas entre las IgG e IgA específicas. Existen pocos datos en la literatura médica sobre el papel de la IgA sérica en la defensa contra el neumococo, pero la IgA puede reaccionar con el PCN, activa el complemento e interviene en la opsonofagocitosis de la bacteria <sup>16</sup>. Sin embargo, no todas las formas moleculares de IgA tienen la misma eficacia, siendo las formas polimérica y secretora de IgA las que principalmente intervienen en la unión, aglutinación y opsonofagocitosis dependiente del complemento de *Streptococcus pneumoniae* <sup>27</sup>. Hemos podido observar respuestas de IgA deficientes a la vacuna polisacárida neumocócica 23-valente (PPV-23) en pacientes con infección VIH con infecciones respiratorias bacterianas recurrentes <sup>28</sup>. Se observó un menor aumento de niveles de IgM e IgA específicas en comparación con la IgG en niños después de recibir una vacuna conjugada neumocócica que incluía el serotipo 6B <sup>29</sup>. Al estudiar la disminución de la función inmunitaria con la edad avanzada, los niveles de IgA sérica fueron mayores en los ancianos que en los controles sanos más jóvenes <sup>20</sup>, pero otros estudios muestran una elevada variabilidad <sup>30-33</sup>. Las elevaciones de anticuerpos policlonales de diferentes tipos pueden ser el resultado de la exposición acumulada a distintos antígenos en el tiempo, el aumento de la exposición en mucosas, o a alteraciones de activación de las células B. Se necesitan más investigaciones para aclarar el papel exacto de la IgA en la defensa contra el neumococo, pero en base a resultados aquí presentados y los mencionados estudios, es probable que la importancia de la IgA sea variable según la forma molecular, la edad o la comorbilidad del paciente, y seguramente para serotipos diferentes.

Se pueden extraer algunas conclusiones importantes en el subgrupo de pacientes con NACN con sueros en fase aguda y convalecencia y cuyo serotipo responsable fue conocido. En primer lugar, tomados individualmente, los niveles de anticuerpos naturales en la fase aguda no son un buen predictor del riesgo de desarrollar una NACN por un determinado serotipo, y que el nivel de IgG específica de 1 mg/mL no puede ser considerado como umbral válido de protección en este contexto. En segundo lugar, tal como sucede en individuos vacunados, el grado de aumento de los anticuerpos naturales después de una infección por un serotipo determinado es variable entre diferentes individuos. Se puede argumentar que otros factores importantes en la defensa frente al neumococo, como la afinidad de los anticuerpos o la capacidad opsonofagocítica dependiente del complemento, no han sido estudiados. En un estudio previo, los anticuerpos en suero de pacientes ingresados por neumonía neumocócica mostraban una pobre capacidad de opsonización frente al serotipo infectante en comparación con la de los sujetos colonizados, individuos control con niveles de IgG después de la vacunación  $\geq 5$  mg/mL a 5 serotipos, y una mezcla de sueros de referencia <sup>11</sup>. Para comparar los niveles de anticuerpos entre los diferentes grupos, hemos optado por un umbral ( $\geq 1$  mg/mL) que puede ser discutible, porque los niveles de anticuerpos protectores frente a la infección neumocócica no han sido establecidos y, posiblemente, pueden variar para los anticuerpos naturales, los anticuerpos post-vacunación o para cada serotipo <sup>34</sup>. En ratas lactantes inmunizadas una concentración de anticuerpos en suero serotipo específica de 0,1-1,15 mg/ml redujo la mortalidad, excepto para el serotipo 14, que requirió 2,32 mg/mL <sup>35</sup>. En inmunodeficiencias primarias se define como respuesta adecuada a la vacuna un aumento de al menos 4 veces del valor basal o un título post-vacunación  $\geq 1,3$  mg/ml <sup>36</sup>, aunque títulos elevados antes de la inmunización no necesariamente impiden el incremento de 4 veces o más tras la vacunación <sup>37</sup>. Una limitación de este estudio es el reducido tamaño muestral, pero los estrictos criterios de inclusión con el fin de garantizar un correcto diagnóstico de la NACN supusieron una dificultad para reclutar pacientes. Los individuos estudiados aquí son una población de alto riesgo para desarrollar otro episodio con posterioridad <sup>38</sup>, y los que se pueden beneficiar de la vacunación.

Al estratificar los casos por la presencia o no de bacteriemia no se observaron diferencias con los aquí descritos para toda la población (datos no mostrados).



Otras limitaciones son la falta de un suero de convalecencia y el serotipado de las cepas de neumococo para todos los casos.

En vista de estos resultados podemos concluir que las personas en riesgo de presentar una NACN tienen altos niveles de anticuerpos naturales frente a la mayoría los serotipos de la PCV-7, sobre todo los ancianos y pacientes con enfermedades respiratorias subyacentes, y que el nivel de anticuerpos naturales en individuos sanos aumenta con la edad. Sin embargo los niveles de anticuerpos naturales frente a algunos serotipos emergentes no incluidos en la PCV-7 son menores. El nivel de anticuerpos naturales durante la fase aguda de una NACN no es un buen predictor del riesgo de desarrollar esta infección y que las respuestas serológicas después de un episodio de NACN son variables entre diferentes individuos y serotipos. Hacen falta más estudios para aclarar el papel de la IgA específica en la infección neumocócica.

## Bibliografía

- 1- Marston BJ, Plouffe JF, File TM, et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization: Results of a population-based active surveillance study in Ohio. *Arch Intern Med* 1997, 157: 1709-18.
- 2- Burman LA, Norrby R, Trollfors B. Invasive pneumococcal infections. Incidence, predisposing factors, and prognosis. *Rev Infect Dis* 1985, 7: 133-42.
- 3- Lipsky BA, Boyko EJ, Inui TS, Koepsell TD. Risk-factors for acquiring pneumococcal infections. *Arch Intern Med* 1986, 146: 2179-85.
- 4- Pastor P, Medley F, Murphy TV. Invasive pneumococcal disease in Dallas County, Texas: Results from population-based surveillance in 1995. *Clin Infect Dis* 1998, 26: 590-5.
- 5- Lexau CA, Lynfield R, Danila R, et al. Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease among older adults in the era of pediatric pneumococcal conjugate vaccine. *JAMA* 2005, 294: 2043-51.
- 6- Whitney CG, Farley MM, Hadler J, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med* 2003, 348: 1737-46.
- 7- Albrich WC, Baughman W, Schmotzer B, Farley MM. Changing characteristics of invasive pneumococcal disease in metropolitan Atlanta, Georgia, after introduction of a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Clin Infect Dis* 2007, 44: 1569-76.
- 8- Kyaw MH, Lynfield R, Schaffner W, et al. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med* 2006, 354: 1455-63.
- 9- Poehling KA, Talbot TR, Griffin MR, et al. Invasive pneumococcal disease among infants before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccine. *JAMA* 2006, 295: 1668-74.
- 10- Barricarte A, Gil-Setas A, Torroba L, et al. Invasive pneumococcal disease in children younger than 5 years in Navarra, Spain (2000-2005). Impact of the conjugate vaccine. *Med Clin (Barc)* 2007, 129: 41-5.
- 11- Musher DM, Phan HM, Watson DA, Baughn RE. Antibody to capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* at the time of hospital admission for pneumococcal pneumonia. *J Infect Dis* 2000, 182: 158-67.
- 12- Goldblatt D, Hussain M, Andrews N, et al. Antibody responses to nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in adults: A longitudinal household study. *J Infect Dis* 2005, 192: 387-93.
- 13- Musher DM, Groover JE, Reichler MR, et al. Emergence of antibody to capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae* during outbreaks of pneumonia: Association with nasopharyngeal colonization. *Clin Infect Dis* 1997, 24: 441-6.
- 14- Navarro D, Escribano A, Cebrian L, Gimeno C, Garcia-Maset L, Garcia-De-Lomas J. Type-specific antibodies to pneumococcal capsular polysaccharide acquired either naturally or after vaccination with Prevenar in children with underlying chronic or recurrent lung diseases. *Clin Vaccine Immunol* 2006, 13: 665-70.
- 15- Esposito S, Droghetti R, Faelli N, et al. Serum concentrations of pneumococcal anticapsular antibodies in children with pneumonia associated with *Streptococcus pneumoniae* infection. *Clin Infect Dis* 2003, 37: 1261-4.
- 16- Janoff EN, Fasching C, Orenstein JM, Rubins JB, Opstad NL, Dalmasso AP. Killing of *Streptococcus pneumoniae* by capsular polysaccharide-specific polymeric IgA, complement, and phagocytes. *J Clin Invest* 1999, 104: 1139-47.
- 17- Wernette CM, Frasch CE, Madore D, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003, 10: 514-9.
- 18- de Aristegui Fernandez J, Corretger Rauet JM, Garcia Martin F, et al. Pneumococcal disease and its prevention. The heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *An Esp Pediatr* 2002, 56: 79-90.

- 19- Ruben FL, Uhrin M. Specific immunoglobulin-class antibody-responses in the elderly before and after 14-valent pneumococcal vaccine. *J Infect Dis* 1985, 151: 845-9
- 20- Carson PJ, Nichol KL, O'Brien J, Hilo P, Janoff EN. Immune function and vaccine responses in healthy advanced elderly patients. *Arch Intern Med* 2000, 160: 2017-24.
- 21- Davidson M, Bulkow LR, Grabman J, et al. Immunogenicity of pneumococcal revaccination in patients with chronic disease. *Arch Intern Med* 1994, 154: 2209-14.
- 22- Musher DM, Groover JE, Rowland JM, et al. Antibody to capsular polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*. Prevalence, persistence, and response to revaccination. *Clin Infect Dis* 1993, 17: 66-73.
- 23- Gwaltney JM, Sande MA, Austrian R, Hendley JO. Spread of *Streptococcus pneumoniae* in families. 2. Relation of transfer of *Streptococcus pneumoniae* to incidence of colds and serum antibody. *J Infect Dis* 1975, 132: 62-8.
- 24- Heidelberger M. Cross-reactions of polysaccharides of staphylococci and streptococci in antipneumococcal and other antisera. *Mol Immunol* 1984, 21: 1011-3.
- 25- Ardanuy C, Tubau F, Pallares R, et al. Epidemiology of Invasive Pneumococcal Disease among Adult Patients in Barcelona Before and After Pediatric 7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Introduction, 1997-2007. *Clin Infect Dis* 2009, 48: 57-64.
- 26- Obando I, Munoz-Almagro C, Arroyo LA, et al. Pediatric parapneumonic empyema, Spain. *Emerg Infect Dis* 2008, 14:1390-7.
- 27- Fasching CE, Grossman T, Corthesy B, Plaut AG, Weiser JN, Janoff EN. Impact of the molecular form of immunoglobulin A on functional activity in defense against *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun* 2007, 75: 1801-10.
- 28- Payeras A, Martinez P, Mila J, et al. Risk factors in HIV-1-infected patients developing repetitive bacterial infections: toxicological, clinical, specific antibody class responses, opsonophagocytosis and Fc gamma RIIa polymorphism characteristics. *Clin Exp Immunol* 2002, 130: 271-8.
- 29- Sigurdardottir ST, Vidarsson G, Gudnason T, et al. Immune responses of infants vaccinated with serotype 6B pneumococcal polysaccharide conjugated with tetanus toxoid. *Pediatr Infect Dis J* 1997, 16: 667-74.
- 30- Paganelli R, Quinti I, Fagiolo U, et al. Changes in circulating B-cells and immunoglobulin classes and subclasses in a healthy aged population. *Clin Exp Immunol* 1992, 90: 351-4.
- 31- Saltzman RL, Peterson PK. Immunodeficiency of the elderly. *Rev Infect Dis* 1987, 9: 1127-39.
- 32- Miller RA. The aging immune system: Primer and prospectus. *Science* 1996, 273: 70-4.
- 33- Hallgren HM, Bergh N, Rodysill KJ, O'leary JJ. Lymphocyte proliferative response to PHA and anti-CD3/Ti monoclonal-antibodies, T-cell surface marker expression, and serum IL-2 receptor levels as biomarkers of age and health. *Mech Ageing Dev* 1988, 43: 175-85.
- 34- Wuorimaa T, Kayhty H. Current state of pneumococcal vaccines. *Scand J Immunol* 2002, 56: 111-29.
- 35- Stack AM, Malley R, Thompson CM, Kobzik L, Siber GR, Saladino RA. Minimum protective serum concentrations of pneumococcal anti-capsular antibodies in infant rats. *J Infect Dis* 1998,177: 986-90.
- 36- Bonilla FA, Bernstein IL, Khan DA, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005, 94: S1-S63.
- 37- Hare ND, Smith BJ, Ballas ZK. Antibody response to pneumococcal vaccination as a function of preimmunization titer. *J Allergy Clin Immunol* 2009, 123: 195-200.
- 38- Hedlund JU, Ortqvist AB, Kalin M, Scaliatomba G, Giesecke J. Risk of pneumonia in patients previously treated in hospital for pneumonia. *Lancet* 1992, 340: 396-7.