

Análisis de laboratorio en los pacientes que presentan infección recurrente y pueden sufrir de inmunodeficiencia

Pablo Javier Patiño, MD, DSc¹; Helí Salgado, MD; Diana García de OD, MD¹;
Carlos Julio Montoya, MD, MSc¹

Resumen

El síndrome de infección recurrente constituye una causa importante de morbilidad y mortalidad, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, lo cual implica altos costos sociales y económicos para los distintos servicios de salud. Prácticamente todos los individuos inmunocompetentes tenemos períodos importantes de infecciones recurrentes, las cuales podemos considerar normales, porque permiten que el sistema inmune aprenda a conocer y a responder contra un ambiente rico en microorganismos con capacidad de producir infecciones en una persona inmunocompetente. Sin embargo, su presentación con ciertas características pueden estar reflejando incremento anormal de susceptibilidad de los individuos a ciertos procesos infecciosos. Una vez se inicia el estudio de un paciente con síndrome de infección recurrente es fundamental establecer si existe un defecto inmunológico subyacente que implique el desarrollo de infecciones severas. El estudio de laboratorio también brinda la posibilidad de realizar un diagnóstico específico de inmunodeficiencia, lo que sumado al rápido desarrollo en la inmunoterapia genera la posibilidad de prescribir un tratamiento oportuno y racional, con objeto de evitar recaídas y el desarrollo de secuelas, así como mejorar la calidad de vida del paciente y su familia. En este artículo se mostrará un esquema secuencial para el estudio de la respuesta inmune en pacientes con infecciones recurrentes anormales que permiten, inicialmente, establecer un diagnóstico fenotípico para luego realizar una caracterización molecular de la inmunodeficiencia que se haya identificado.

Palabras clave: Infección recurrente anormal, inmunodeficiencias primarias, diagnóstico fenotípico, caracterización molecular.

Abstract

The syndrome of recurrent infection constitutes an important cause of morbidity and mortality, both in developed and non-developed countries, which implies high social and economic costs for the health services. Practically all individuals with an appropriate immune response have important periods of recurrent infections, which we can consider as normal. These infectious processes allow that the immune system learns how to respond against an environment that is plenty of microorganisms with capacity to produce infections in an immunocompetent subject. Nevertheless recurrent infections associated with certain characteristics might reflect an abnormal increase of the susceptibility of an individual to certain infectious processes. Once the study of a patient with recurrent infection syndrome begins, it is fundamental to establish if an underlying immunological defect exists, which might explain the development of severe infections. The laboratory evaluation is an important step in the goal to establish a specific diagnosis of an immunodeficiency disease. A precise diagnosis besides to the accelerated development of the immunotherapy, opens the possibility of prescribing an opportune and rational treatment. An appropriate treatment must have as main goal to avoid the relapse of infections and the development of sequels and at the same time to improve the quality of life of

Fecha de aceptación: Agosto 2003

¹ Grupo de Inmunodeficiencias Primarias, Facultad de Medicina – Corporación Biogénesis, Universidad de Antioquia. ppatino@catios.udea.edu.co

the patient and her or his family. In this article we would show a sequential scheme for the study of the immune response in patients that present abnormal recurrent infections. This algorithm will help the clinician to establish a soon phenotypic diagnosis and laterly to make a molecular characterization of the immunodeficiency that has been identified.

Key words: Abnormal recurrent infection, primary immunodeficiency diseases, phenotype, molecular characterization.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de infección recurrente (SIR) es la manifestación de un proceso, la mayoría de las veces asintomático o subclínico, que resulta de la interacción repetida de un individuo con los agentes infecciosos que habitan en su ambiente (1). El desarrollo normal del organismo permite que por medio de este contacto el sistema inmune genere respuestas afectivas contra los microorganismos (2); sin embargo, algunos trastornos estructurales o funcionales del hospedero hacen que ciertas infecciones no se controlen adecuadamente y se comporten de una manera inusual, lo cual afecta el desarrollo del individuo tanto por su frecuencia de ataque como por su severidad (3). Esta situación da origen a un comportamiento anormal de la interacción entre el hospedero y los agentes infecciosos denominados SIR anormal (SIRA).

Cuando se estudia en el laboratorio un paciente con SIRA, el objetivo fundamental es establecer si presenta un defecto inmunológico de base que explique el desarrollo de un cuadro de infecciones severas y recurrentes (4-7). Además de buscar el origen inmunológico, el estudio de laboratorio también está orientado a definir un diagnóstico específico de inmunodeficiencia, dado la posibilidad de prescribir un tratamiento oportuno y racional, con el objetivo de evitar recaídas y el desarrollo de secuelas, así como mejorar la calidad de vida del paciente y su familia. En muchas ocasiones también nos permitirá ofrecer una consejería genética y así disminuir el riesgo de aparición de nuevos pacientes con inmunodeficiencias severas en las familias afectadas. Por lo tanto, el estudio de la función inmunológica en los pacientes con infección recurrente anormal se ha construido en una herramienta de primera mano que está al alcance del personal de atención en salud y necesita ser reconocido y manejado con propiedad.

El estudio de la respuesta inmune requiere no sólo de un análisis cuantitativo o estructural, sino que también demanda la realización de estudios funcionales que permiten identificar alteraciones más sutiles en la defensa contra los organismos infecciosos(8). Diferentes parámetros clínicos ayudan a enfocar los estudios de laboratorio hacia uno de los diferentes aspectos de la respuesta inmune: edad de inicio de las infecciones, sexo del paciente, órganos comprometidos, gérmenes causales, así como antecedentes personales y familiares de SIRA (1,3). De acuerdo con la sospecha inicial del mecanismo de defensa afectado, se programan los diferentes estudios para evaluar la función inmunológica estableciendo etapas por orden de complejidad.

1. Primera etapa: ESTUDIOS BÁSICOS DE LABORATORIO

Los estudios básicos sumados a los datos de la historia clínica y el examen físico aportan información valiosa para orientar los estudios de etapas posteriores; en algunos casos

incluso pueden permitirnos establecer un diagnóstico fenotípico de una inmunodeficiencia primaria.

Los principales estudios que se deben realizar en esta primera etapa incluyen:

1.1. Hemoleucograma con sedimentación, extendido de sangre periférica y recuento de plaquetas (9). Se debe prestar atención ante la presencia de los siguientes hallazgos, que sugieren el diagnóstico de una deficiencia inmune:

- *Anemia moderada a severa*, especialmente con características de cronicidad (hipocromía, microcitos, etc.)
- *Granulocitopenia (neutropenia)*: este hallazgo puede enfocar el diagnóstico a anomalías tales como la neutropenia congénita severa (Enfermedad de Kostmann), el síndrome de Schwachman, la neutropenia cíclica, la disgenesia reticular, la mielocatexis y el síndrome de Chediak-Higashi. También se encuentran asociadas a otras inmunodeficiencias como la agamaglobulinemia ligada al cromosoma X, el síndrome de hiperinmunoglobulinemia M (HIM), la inmunodeficiencia común variable, el enanismo con extremidades cortas y la deficiencia selectiva de IgA (9,10).
- *Neutrofilia*: es una manifestación característica de la deficiencia de adhesión leucocitaria tipo I, aun en aquellos períodos en los que el paciente está libre de infección (10). Sin embargo, puede ser un hallazgo frecuente en otras deficiencias inmunes que cursan con infecciones por gérmenes piógenos.
- *Granulaciones citoplasmáticas anormales*, de gran tamaño, en diferentes líneas celulares sanguíneas pero especialmente aparentes en los neutrófilos, son un rasgo morfológico típico del síndrome de Chediak-Higashi; un hallazgo similar se observa en el síndrome de Griselli (11).
- *Linfopenia*: es la característica predominante en la mayoría de las inmunodeficiencias severas combinadas. También se encuentran en otras inmunodeficiencias como la agamaglobulinemia ligada al X, en la ataxia telangiectasia y en algunas formas de inmunodeficiencia común variable(11).
- *Eosinofilia*: Presente en múltiples inmunodeficiencias como los síndromes de Hiper-IgE, Wiskott Aldrich, Omenn y Nezelof, también se puede presentar en neutropenias congénitas y en ciertos casos de inmunodeficiencia severa combinada (8).
- *Trombocitopenia con microtrombocitos*: es un hallazgo fundamental para el diagnóstico del síndrome de Wiskott-Aldrich(10).

1.2. Análisis para determinar los gérmenes causales de las infecciones y su sensibilidad a los antimicrobianos. La etiología de las infecciones es un rasgo que caracteriza a los diferentes grupos de inmunodeficiencias, y por lo tanto es fundamental tratar de establecer el tipo de germen causal de cualquier infección en un paciente con inmunodeficiencia (11). Se reconocen las siguientes asociaciones:

- Las deficiencias de anticuerpos presentan infecciones producidas fundamentalmente por *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Mycoplasma spp*, *Giardia lamblia*, *Campylobacter spp*, enterovirus (polio, ECHO).
- En las deficiencias de la inmunidad celular se encuentran microorganismos tales como *Pneumocystis carinii*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, micobacterias, citomegalovirus, virus respiratorio sincitial, herpes virus, adenovirus, molusco contagioso y otros gérmenes intracelulares oportunistas.
- El déficit de las células fagocíticas se asocia con infecciones producidas principalmente por *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp*, *Serratia marsescens*, *Klebsiella spp*, *Escherichia coli*, *Burkholderia cepacia*, *Proteus spp*, *Aspergillus spp*, *Candida albicans*, *Nocardia spp*.
- En las alteraciones combinadas de la inmunidad celular y de los fagocitos se encuentran infecciones por *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans*, *Aspergillus spp* y bacilos gram negativos.
- Las infecciones en las deficiencias del complemento por lo general son debidas a bacterias capsuladas como estreptococos, neisserias y *Haemophilus influenzae*.

De acuerdo con el germen causal se puede establecer que las deficiencias de la inmunidad humoral (anticuerpos y complemento) y de las células fagocíticas generalmente presentan infecciones por microorganismos extracelulares, mientras que los defectos de la inmunidad mediada por células se caracterizan por infecciones producidas por gérmenes intracelulares.

1.3. **Electroforesis de proteínas séricas.** Ofrece una visión general de la composición y distribución de las proteínas circulantes del paciente. Con la determinación de las proteínas totales, su distribución y la relación entre albúmina y globulinas se establece un importante parámetro del estado nutricional (12). Además, se deben considerar los siguientes aspectos:

- Aproximadamente el 90% de la fracción α -1 antitripsina, cuya deficiencia es una causa de infecciones recurrentes especialmente del aparato respiratorio. Esta fracción se encuentra elevada en la ataxia telangiectasia por un aumento en la producción de a fetoproteína.
- Los factores del complemento más importantes se encuentran representados en la fracción β .
- En la fracción γ migran las diferentes inmunoglobulinas séricas y el mayor porcentaje corresponde a la IgG, por lo tanto con este examen se puede detectar fácilmente una disminución de inmunoglobulinas. Se considera hipogamaglobulinemia la presencia de menos de 500 mg/dl en esta fracción y agamaglobulinemia cuando los niveles son menos de 200 mg/dl. En individuos

inmunocompetentes o en deficiencias de células fagocíticas o del complemento es común encontrar una hipergamaglobulinemia reactiva ante los procesos infecciosos.

1.4. *Estudios imaginológicos cuando sean necesarios (Rx de tórax, TAC, etc.).* Estos pueden revelar hallazgos como el tamaño del timo, la presencia de neumonías supurativas con desarrollo de neumatoceles y empiemas, alteraciones osteocondrales, abscesos en órganos profundos, fístulas u otros defectos anatómicos, así como la presencia de cuerpos extraños.

2. Estudios de la segunda etapa

La decisión acerca de cuáles análisis realizar en esta fase del estudio está determinada por los hallazgos obtenidos en la historia, el examen físico y los resultados de los estudios de la primera etapa. Estos se requieren para realizar un diagnóstico fenotípico, orientar el manejo terapéutico y, en ocasiones, definir el pronóstico. Debido a las implicaciones que tiene para el paciente y la familia el diagnóstico de una inmunodeficiencia primaria, todo resultado debe estar respaldado por una segunda prueba de laboratorio confirmatoria.

2.1. Deficiencias en la inmunidad humoral específica

- Dosificación de las inmunoglobulinas séricas (IgG, IgA, IgM): Este examen nos permite confirmar y determinar cuantitativamente el grado de deficiencia de anticuerpos. Como se mencionó previamente para la fracción gamma de la electroforesis, en los mayores de dos años se considerará hipogamaglobulinemia cuando los niveles de IgG sean menores de 500 mg/dl y agamaglobulinemia cuando sean menores de 200 mg/dl. En los menores de dos años se tendrán en cuenta los niveles establecidos de acuerdo con la edad (media \pm dos desviaciones estándar) al momento de definir una deficiencia cuantitativa. La definición de deficiencia selectiva de IgA exige un valor mínimo de 5 mg/dl y la deficiencia de IgM un valor menor de 10 mg/dl (5, 8, 11). Como patrón de referencia se recomienda seguir las tablas regionales de valores de inmunoglobulinemias séricas por edad y sexo (13).
- En los pacientes con sospecha de agamaglobulinemia ligada al X se realiza la cuantificación de linfocitos B maduros en sangre periférica por medio de la determinación de los linfocitos CD19+ con citometría de flujo, ya que su ausencia ayuda a confirmar esta entidad (14). Dicha prueba también se debe realizar en aquellos niños con hipogamaglobulinemia transitoria de la infancia con el propósito de una forma menos severa de agamaglobulinemia ligada al cromosoma X. Aunque el CD19 es el marcador más usado para establecer la población de células B, se pueden usar otros marcadores como el CD20, CD21 y CD22.
- Las isohemaglutininas séricas (anticuerpos naturales tipo IgM) están ausentes en la agamaglobulinemia ligada al X y en el síndrome de Wiskott-Aldrich. La evaluación de estos anticuerpos es importante en la evaluación y el diagnóstico diferencial de la hipogamaglobulinemia transitoria de la infancia, enfermedad que se caracteriza por presentar valores normales de ellas (15).

- Cuando los niveles de IgG sérica son normales pero el cuadro de infección recurrente anormal es altamente sugestivo de una deficiencia de anticuerpos, se deben determinar las concentraciones de las diferentes subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Los valores normales de cada subclase han sido difíciles de determinar, sin embargo, se recomienda considerar los porcentajes establecidos para cada una de ella (se consideran porcentajes normales: IgG1 60 a 64%; IgG2 20 a 26%; IgG3 6 a 8%; IgG4 1 a 4%) (16). Dado que la IgG1 comprende dos terceras partes de la IgG sérica total, la deficiencia selectiva de esta subclase no se ha descrito, pues todos los posibles afectados se presentan como una verdadera hipogamaglobulinemia.
- Si también las subclases de IgG son normales, se sugiere evaluar funcionalmente la producción de anticuerpos específicos en respuesta a los antígenos suministrados en la vacunación (7, 11, 17). Para determinar la respuesta ante antígeno proteicos se determina los anticuerpos contra hepatitis B, rubéola o sarampión después de haber recibido la respectiva vacuna; para analizar la respuesta a polisacáridos se analizan los anticuerpos dirigidos contra *Haemophilus influenzae* b (PRP), contra deferentes serotipos de neumococo o por la cuantificación de antiestreptolisinas (AELO).
- Otras pruebas: debido a la alta frecuencia de trastornos autoinmunes asociados a las deficiencias de anticuerpos, se recomienda realizar la determinación de autoanticuerpos (ANAS, ENA, factor reumatoideo, etc.).

2.2. Deficiencia en la inmunidad celular específica (linfocitos T)

- En todo aquel paciente que se sospeche de inmunodeficiencia celular se debe descartar en primer término una infección por el VIH (3), por lo tanto es mandatorio realizar pruebas presuntivas para este virus, y si es del caso, recomendar pruebas confirmatorias.
- *Pruebas de hipersensibilidad retardada:* están indicadas en los mayores de 1 año. Una de las más útiles es la evaluación de la respuesta inmune a la Candida, la cual se hace aplicando 0,1 ml de candidina intradérmica; ésta se considera positiva una induración mayor de 5 mm leída a las 48 horas. También se puede evaluar con PPD, tricofitina, toxoide tetánico, antígenos del virus de la papera o realizando una sensibilización previa con DNCB (15). Se debe tener en cuenta que es necesaria la exposición anterior (y ojalá repetida) al antígeno, además el consumo de ciertos medicamentos, en especial esteroides, que pueden suprimir la respuesta.
- *Cuantificación de subpoblaciones de linfocitos en sangre periférica por citometria de flujo:* porcentaje y valor absoluto de los linfocitos CD3+, CD4+ CD8+ y CD16+ / CD56+. Los resultados se deben analizar teniendo en cuenta los valores establecidos para la edad (14). Estas poblaciones se encuentran francamente disminuidas o ausentes en los pacientes con inmunodeficiencia celular severa, sea combinada o no con déficit de Anticuerpos. En algunos casos, dependiendo de la alteración molecular responsable de la inmunodeficiencia, algunas de estas poblaciones se encuentran más comprometidas que otras, lo cual genera distintos patrones de alteración.

Por ejemplo, cuando hay un defecto en la cadena gamma común de receptores de citoquinas (IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21), las poblaciones de células T (CD3, CD4 y CD8) y células NK (CD16/CD56) están ausentes o muy disminuidas, mientras que las células B (CD19) están normales. De otro lado, cuando existe una alteración en el proceso de recombinación de las regiones variables de los receptores específicos de antígeno (receptor de la célula T y anticuerpos), las poblaciones de células T y B están ausentes, pero las células NK están normales.

- *Análisis de otras moléculas de los linfocitos utilizando la citometría de flujo:* Cuando se sospecha de un defecto molecular específico, se debe analizar la expresión de moléculas esenciales para la diferenciación y función del sistema inmune, tales como las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (para diagnóstico del síndrome del linfocito desnudo), CD3, CD7, CD25, CD154 (éste es el ligando de CD40, el cual está alterado en el síndrome de hiper IgM), cadena gamma común (está ausente o alterada en la inmunodeficiencias severa combinada ligada al X).
- *Dosificación de inmunoglobulinas séricas (IgG, IgA, IgM, IgE):* estos anticuerpos se cuantifican cuando se sospecha una inmunodeficiencia severa combinada. Si las cifras de IgG son anormales, se deben evaluar también los linfocitos CD19+ en sangre periférica. Cifras elevadas de IgE sérica se encuentran características en algunas formas de inmunodeficiencia severa combinada y en los síndromes de Omenn, Nezelof y Wiskott-Aldrich.
- *Otras pruebas:* Las dosificaciones de hormonas séricas (tiroidea, adrenocorticales, etc.), calcio y fósforo se solicitarán cuando estén indicadas, en especial en la candidiasis mucocutánea crónica y en el síndrome de DiGeorge.

2.3. Deficiencias de las células fagocíticas

- Reducción del Nitroazul de Tetrazolium (NBT) en placa por los neutrófilos de sangre periférica (en reposo y activados con PMA). Esta prueba permite evaluar de manera rápida y sencilla la activación del complejo enzimático NADPH oxidasa de los fagocitos y la producción de especies reactivas del oxígeno a partir de éste. Esta prueba es muy importante para descartar la enfermedad granulomatosa crónica y la deficiencia de G6PDH, entidades en las cuales existen defectos en la explosión respiratoria de los fagocitos (3).
- *Estudio de la explosión respiratoria por medio de citometría de flujo midiendo la oxidación de la rodamina 123.* Esta técnica permite confirmar los defectos en la explosión respiratoria de las células fagocíticas y al mismo tiempo cuantificar la severidad de la deficiencia, así como detectar las madres portadoras de un defecto molecular en la forma de enfermedad granulomatosa crónica ligada al cromosoma X.
- Si se sospecha una neutropenia cíclica, se deben realizar al menos dos leucogramas por semanas durante 6 semanas, con el fin de observar la típica caída de las cifras de neutrófilos circulantes durante la crisis de la enfermedad y el ascenso unos pocos días después con la recuperación clínica (18).

- La confirmación de una deficiencia de adhesión leucocitaria tipo I se hace mediante la evaluación de las β_2 integrinas leucocitarias (CD11a, b, c/CD18) en la superficie de los glóbulos blancos por citometría de flujo (18).
- En el caso de un síndrome de Hiper-IgE se requiere determinar los niveles séricos de IgE y la capacidad de respuesta inmune mediante las pruebas de hipersensibilidad retardada aplicando PPD y/o candidina intradérmicos.

2.4. Deficiencia del Complemento

- Dosificación sérica de C3 y C4 (ver tabla).

Interpretación de los niveles de C3, C4 y CH50 séricos

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
C3 y C4 bajos	Activación notable de la vía clásica, se observa en el caso de formación abundante de inmunocomplejos y en la hepatitis viral activa
C3 normal y C4 bajo	Sugiere una deficiencia congénita de C4; también se observa en el angioedema hereditario, en algunos pacientes con lupus y con malaria
C3 bajo y C4 normal	Sugiere una deficiencia congénita de C3. Puede también corresponder a una activación marcada de la vía alterna (como en la infección por gram negativos), a la deficiencia del inactivador de C3b, a un paciente quemado, desnutrido o neonato
C3 y C4 normales con CH50 bajo	Sugiere una deficiencia de algún componente específico de la vía clásica del complemento

- Determinación de la actividad hemolítica 50 (CH50) en el suero del paciente: evalúa la actividad funcional de la vía clásica de activación del complemento, desde C1 hasta C9; no descarta alteraciones en la vía alterna (8).
- En casos de edema angioneurótico recurrente, severo o con antecedentes familiares, se deben determinar en suero la concentración del inhibidor de C1 esterasa (C1NH).
- En casos de hemoglobinuria paroxística nocturna, evaluar por citometría de flujo la expresión del marcador CD59 en glóbulos rojos.

3. Estudios de la tercera etapa

En esta fase de la evaluación de una inmunodeficiencia primaria se deben realizar estudios que permitan caracterizar la enfermedad desde el punto de vista funcional y molecular, lo que además de determinar las bases moleculares del defecto facilitará una acertada consejería genética a los familiares y, en ocasiones, la factibilidad de un trasplante de médula ósea.

En algunos pacientes puede ser pertinente realizar un estudio de su cariotipo con el propósito de determinar la presencia de anomalías cromosómicas que indiquen un defecto molecular de gran magnitud. Esto puede ser el caso cuando existe un defecto inmune asociado a una alteración en algún otro órgano o tejido, por ejemplo, una enfermedad granulomatosa crónica ligada al sexo asociada con anemia hemolítica o distrofia muscular o una inmunodeficiencia que se presenta simultáneamente con retraso mental o asociada a un desorden neurológico, lo cual puede ser consecuencia de una deleción cromosómica que involucra una región de DNA que contiene varios genes.

Además de lo anterior se deben realizar exámenes que dependerán del componente del sistema inmune afectado:

3.1. Deficiencias en la inmunidad humoral específica

- *Producción de anticuerpos in vitro*: por medio de un cultivo de células mononucleares estimuladas con mitógenos y antígenos, evaluando la secreción de diferentes anticuerpos en los sobrenadantes por ELISA (15).
- *Western blot (inmunodetección)*: para evaluar la expresión de proteínas responsables de defectos en la función de las células B tales como la tirosina kinasa de Bruton (Btk) en el caso de una agamaglobulinemia ligada al X o de la molécula coestimuladora inducible (ICOS) que se encuentra ausente en algunos pacientes con inmunodeficiencia común variable.
- *Estudios genéticos moleculares para la caracterización de mutaciones en los genes que pueden estar afectados*, lo cual depende de la preseunción hecha con base en los estudios anteriores. Esta caracterización se puede realizar por medio de polimorfismos conformacionales de cadena sencilla del DNA (SSCP) y por el secuenciamiento del DNA.

3.2. Deficiencias de la inmunidad celular específica o deficiencias combinadas

- Evaluación funcional en cultivo de células mononucleares de sangre periférica estimuladas con mitógenos (PHA, ConA, PWM) y antígenos (Candidina, toxoide tetánico), para determinar la proliferación y la producción de citoquinas (ELISA o por citometría de flujo). También se puede evaluar realizando un cultivo mixto de linfocitos para determinar la respuesta alogénica (15).
- Fenotipificación del HLA en los afectados y familiares en primer grado cuando se sospeche una inmunodeficiencia por déficit de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (síndrome del leucocito desnudo).
- Determinaciones enzimáticas: adenosín deaminasa (ADA) y purina nucleósido fosforilasa (PNP), cuando se sospeche inmunodeficiencia combinada por deficiencia de estas enzimas; éstas se miden en lisados de glóbulos rojos (15).

- *Estudios por citometría de flujo de la expresión de moléculas de membrana en los leucocitos: receptores de citoquinas (IL-2, IL-12, IFN gamma), moléculas de activación (CD69, CD45RO) o de coestimulación (CD40L, CD28, CD80, CD86).*
- *Western blot: para evaluar la expresión de proteínas de señalización intracelular como ZAP-70, JAK-3, cadena gamma común, CD154, etc.*
- *Estudios genético-moleculares para la caracterización de mutaciones en las diferentes inmunodeficiencias de acuerdo a las alteraciones identificadas: SSCP y secuenciación del DNA.*

3.3. Deficiencias de las células fagocíticas (3)

- *En los pacientes con sospecha de Síndrome de Hiper-IgE: evaluación funcional por cultivos de células mononucleares de sangre periférica estimuladas con mitógenos y antígenos, para determinar la producción de citoquinas y la proliferación.*
- *Evaluación de la quimiotaxis de los neutrófilos de sangre periférica *in vitro* (migración bajo gel de agarosa); se encuentran anomalías en los síndromes de Hiper-IgE, Chediak-Higashi y en las deficiencias de adhesión leucocitaria.*
- *Estudio de la explosión respiratoria de los neutrófilos por quimioluminiscencia, cuantificación de la producción de anión superóxido por espectrofotometría.*
- *Determinaciones enzimáticas: G6PDH.*
- *Western blot para evaluar la expresión de las proteínas del sistema NADPH-oxidasa: gp91phox, p22 phox, p47phox y p67phox.*
- *Estudios genético-moleculares para la caracterización de mutaciones en los genes que se consideren responsables de las deficiencias de las células fagocíticas identificadas: SSCP y secuenciación.*

Referencias

1. García de OD, Montoya, CJ, Salgado, H *et al.* Sistema de vigilancia epidemiológica para el Síndrome de Infección Recurrente Patológico (SIRP). *Boletín Epidemiológico de Antioquia* 1995;XX(3):157-166.
2. Salgado, H, Montaña, CVJ, Henao, J, Orrego, JC y Patiño, PJ. Mecanismos de inmunidad contra la infección. *Tópicos de Infectología* 1999:143-151.
3. García de OD, Patiño, PJ, López, JA, Montoya, CJ y Pérez, JE. Evaluación del paciente con inmunodeficiencia. Síndrome de infección recurrente patológica *Medicina y Laboratorio* 1997;7:545-575.
4. Montoya, CJ. Actualización del diagnóstico de inmunodeficiencias primarias en Antioquia: Programa para la detección y manejo del síndrome de infección recurrente. *Rev. Asoc. Colomb. Alerg. Asma e inmunol* 1999; 8(3):29-33.
5. Cameiro-Sampaio, MMS, Grumach, AS y Manissadjian, A. Laboratory screening for the

- diagnosis of children with primary immunodeficiencies. *J Invest. Allergol Clin. Immunol* 1991;1:195-200.
6. López, M, Fleisher, T y de Shazo, RD. Use and interpretation of diagnostic immunologic laboratory test. *JAMA* 1991; 268:2970-2990.
 7. Shearer, WT, Paul, ME y Smith, CW. Laboratory assessment of immune deficiency disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* 1994;14:265-299.
 8. Paul, ME y Shearer, WT. Approach to the evaluation of the immunodeficient patient. In RR, Rich, TA, Fleisher & BD, Schwartz (Eds.), *Clinical Immunology: Principles and Practice*. St. Louis, Mosby, 1996: 609-620.
 9. Campuzano, G. Semiología del hemograma. *Laboratorio al Día* 1995;5(3):161-174.
 10. Holland, MS y Gallin, JI. Evaluation of the patient with suspected immunodeficiency. In Mandell, Douglas, Bennett (Eds.), *Principles and Practice of Infectious Diseases*. New York, Churchill Livingstone, 1995:149-158.
 11. Chapel, HM y Webster, DB. Assessment of the immune system. In HD, Ochs, CIE, Smith y JK, Puck (Eds.), *Primary Immunodeficiency Diseases. A Molecular and Genetic Approach*. New York, Oxford University Press, 1999:419-431.
 12. Campuzano, G. Utilidad clínica de la Electroforesis de Proteínas. *Medicina y Laboratorio* 1997;7:577-593.
 13. García de OD, Posada, LH, García, LF y Cardona, R. Niveles de inmunoglobulinas séricas en población normal de Medellín. *Acta Med. Col.* 1984; 9:45.
 14. Comans-Bitter, WM, De Groot, R y Van den Beemad, R. Immunophenotyping of blood lymphocyte in childhood. Reference values for lymphocyte subpopulations. *J Pediatr* 1979;130:388-393.
 15. Knutsen, AP y Fisher, TJ. Primary Immunodeficiency Diseases. In GJ, Lawlor, TJ, Fisher & DC, Adelman (Eds.), *Manual of Allergy and Immunology*. Boston, Little, Brown and Company, 1995:397-424.
 16. Schur, PH, Rosen, F y Norman, ME. Immunoglobulin subclasses in normal children. *Pediatr Res* 1979;13:181-183.
 17. Zora, JA, Silk, HJ y Tinkelman, DG. Evaluation of postimmunization pneumococcal titers in children with recurrent infections and normal levels of immunoglobulin. *Ann Allergy* 1993;70:283-287.
 18. Holland, SM y Gallin, JI. Evaluation of the patient with recurrent bacterial infections. *Annu Rev Med* 1998; 49:185-189.