

TESI DOCTORAL

**IMMUNOGLOBULINES
|
PNEUMÒNIA ADQUIRIDA A LA COMUNITAT**

Doctorand: M.CARMEN DE LA TORRE TERRÓN

Director: Dr. JORDI ALMIRALL I PUJOL

Tutor: Dr. FERRAN MORELL BROTA

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA

DEPARTAMENT DE MEDICINA



Universitat Autònoma de Barcelona

BARCELONA 2015



Universitat Autònoma de Barcelona

DEPARTAMENT DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORAT EN MEDICINA

Els Doctors **Jordi Almirall i Pujol** i **Ferran Morell Brotad**, professors del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, com a Director i Tutor respectivament,

Informen:

Que el treball titulat “ **IMMUNOGLOBULINES I PNEUMÒNIA ADQUIRIDA A LA COMUNITAT**” realitzat per M.Carmen de la Torre Terrón, ha estat realitzat sota la seva direcció i es troba en condicions de ser llegit i defensat com a Tesi Doctoral davant del tribunal corresponent de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Jordi Almirall i Pujol

Ferran Morell Brotad

Barcelona, 2015

A la meva família: el Litos i les meves nenes
la Laura i la Núria; als meus pares i germanes,
i en record a *“mi abuela”*.

AGRAÏMENTS

Aquesta tesi no hagués estat possible sense l'incondicional suport de molta gent. Vull expressar el meu agraïment a tots aquells que d'alguna forma han col·laborat en la seva realització.

Gràcies al Litos, el meu marit, per la seva paciència, els seus ànims i la seva comprensió a l'hora d'entendre que havia d'estar davant de l'ordinador en comptes de gaudir de la família. Agrair amb paraules és menys gratificador que fer-ho amb fets, però crec que en un futur podré arribar a compensar el temps que la tesi ens ha "robat". Gràcies a les meves filles, la Laura i la Núria, per posar-m'ho fàcil, suposo que la ignorància de la infància ha estat la seva aliada alhora de compartir la "mama" amb les immunoglobulines. Hagués estat impossible acabar aquest treball sense l'ajuda dels meus pares, sempre presents, sempre amb la taula parada, sempre disposats a cuidar de les petites, i de canviar els seus plans per tal d'ajudar-me, GRACIES (amb majúscules) pel recolzament que m'han donat i em donen en el dia a dia de la meva carrera professional i personal.

Però una tesi mai és cosa "d'un" i aquest treball no és l'excepció, és la tesi de la UCI de l'Hospital de Mataró, gràcies: Jordi, Rafa, Glòria, Manel, Joan Carles, Estel, Francesc, Pepe, Juan, Ester, Pablo, Adrià i Roger, adjunts i residents de la UCI per haver-me alliberat de molta càrrega assistencial i donar-me temps per investigar, estudiar i escriure. Gràcies Dr. Yébenes per entendre que uns fan assistència perquè uns altres puguin fer recerca. Gràcies a tot el servei pels vostres ànims i per aguantar alguna sessió "rotllo", gràcies pels vostres missatges directes i contundents: "treu-te-la ja". Gràcies als infermers i les

infermeres de la UCI que m'han cuidat a les nits de guàrdia perquè pogués fer feina al dia següent.

Gràcies al Departament de Recerca, el Dr. Mateu Serra i la Elisabet Palomera, que han fet una feina inestimable, sobretot perquè al principi era un projecte que no veien clar, en canvi han estat "sensibles" quan els resultats no eren els desitjables i "específics" en la seves crítiques. En especial, gràcies Eli, per l'immens temps que has gastat en les immunoglobulines.

Gràcies al Dr. Jesús Bermejo, va aparèixer en el moment just i crucial de la tesi, aquell moment en que penses deixar-ho tot i abandonar, però llavors la seva experiència com immunòleg va permetre reorientar el tema i crec que ens hem sortit. Gràcies per ser accessible, per haver invertit el temps en un projecte d'una persona que ni tan sols coneixies, gràcies per la trobada de Madrid i per l'acollida que em va fer a Valladolid. Espero que aquest treball només hagi estat el primer punt d'unió en la cooperació Valladolid-Mataró.

Gràcies al Dr. Solsona i a l'Olga per la vostra col·laboració alhora de fer correccions ortogràfiques i sintàctiques.

Gràcies al Dr. Ferran Morell, tutor de la tesi, per la seva disponibilitat, pel seu interès i pel suport que ha donat a aquest treball.

Però si hi ha una persona que ha cregut en aquest projecte, més que la pròpia doctoranda, ha estat el Dr. Jordi Almirall. Tot i que en els documents quedarà com el "director", per mi no ha estat només això, ha estat la persona que em va oferir un projecte sense tenir gaires referències de mi, la persona que m'ha introduït en el món de la investigació i la recerca, i la persona que cada dia dóna testimoni de la seva constància,

empenta, ganes i il·lusió per trobar la forma d'ajudar als pacients des d'una taula i un ordinador, perquè en contra de lo que alguns creuen, això també és medicina. Gràcies Jordi perquè m'ho has fet molt més fàcil, sovint m'has desembolicat les idees i no només has estat director de la tesi sinó company i amic.

ABREVIATURES

aa	Aminoàcids
AAS	Àcid acetil salicílic
ABS	Àrea bàsica de salut
Ac/Acs	Anticòs/Anticossos
ADCC	Citotoxicitat cel·lular depenent d'anticossos
Ag /Ags	Antigen/ Antígens
AINES	Antiinflamatoris no esteroïdals
APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II
ATS	<i>American Thoracic Society</i>
BTS	<i>British Thoracic Society</i>
CDR	Regions determinants de complementarietat
CH	Cadena pesada
CL	Cadena lleugera
CMH	Complex Major d'Histocompatibilitat
CMV	Citomegalovirus
CPA	Cèl·lules presentadores d'antigen
CVID	Immunodeficiència Comú variable
DS	Desviació Standard
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
Ev	endovenós/a

FiO ₂	Fracció d'Oxigen Inspirat
Fab	Fracció variable
Fc	Fracció constant
FNT	Factor de Necrosis Tumoral
HCAP	Pneumònia Associada als Cuidats Mèdics
HIV	Virus de la Immunodeficiència Humana
IDSA	<i>Infectious Diseases Society of America</i>
IL	Interleuquina
Id/Ids	Immunodeficiència/Immunodeficiències
Ig/Igs	Immunoglobulina/immunoglobulines
IGIV	Immunoglobulines endovenoses
LPS	Lipopolisacàrid
MPOC	Malaltia Pulmonar Obstructiva Crònica
NK	<i>Natural Killer</i>
PAC	Pneumònia Adquirida a la Comunitat.
PaCO ₂	Pressió parcial de diòxid de carboni
PAMP	Patrons Moleculars Associats a Patògens
PaO ₂	Pressió parcial d'Oxigen
PCR	Proteïna C Reactiva
PCT	Procalcitonina
rpm	Respiracions per minut
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> Meticil·lina Resistent
SIgAD	Dèficit selectiu d'IgA

SIgMD	Dèficit selectiu d'IgM
SIRS	Síndrome de resposta inflamatòria sistèmica
SOFA	<i>Sequential Organ Failure Assessment</i>
TAC	Tomografia axial computeritzada
UCI	Unitat de Cures Intensives
XLA	Agammaglobulinèmia lligada a X

ÍNDEX

INDEX GENERAL

PREFACI	24
INTRODUCCIÓ	25
1. La pneumònia adquirida a la comunitat	27
1.1. Epidemiologia	27
1.2. Definicions	28
1.3. Classificació de la PAC	29
1.4. Patogènesis	31
1.5. Etiologia	32
1.6. Diagnòstic	33
1.6.1. Criteris Clínic	33
1.6.2. Criteris Radiològics	35
1.6.3. Test microbiològics	35
1.7. Tractaments convencionals	35
1.7.1. Teràpia dirigida. Temps d'inici i durada	37
1.8. Noves terapèutiques	37
2. La resposta immunitària	40
2.1. Patogènia de la infecció	41
2.2. Immunitat innata	43
2.3. Immunitat adquirida	45
2.3.1. Fases de la resposta immunitària adaptativa	48
3. Les immunoglobulines	50
3.1. Referència històrica	51
3.2. Estructura de les immunoglobulines	55
3.3. Tipus d'immunoglobulines	58
3.4. Funcions generals de les immunoglobulines	59
3.4.1. Neutralització de microorganismes i toxines microbianes	60
3.4.2. Opsonització i fagocitosis	62
3.4.3. Citotoxicitat cel·lular	63

3.4.4. Activació del complement	64
3.5. Funcions específiques dels anticossos	65
3.5.1. Funcions de la IgA	65
3.5.2. Funcions de la IgG	67
3.5.3. Funcions de la IgM	69
3.5.4. Funcions de la IgD	70
3.5.5. Funcions de la IgE	71
3.6. Immunodeficiències humorals	72
3.6.1. Dèficit selectiu d'IgA	73
3.6.2. Agammaglobulinèmia lligada a X	73
3.6.3. Immunodeficiència comú variable	75
3.6.4. Dèficit de subclasses de IgG	76
3.6.5. Dèficit selectiu d'IgM	76
3.6.6. Immunodeficiències adquirides	76
3.7. Aplicacions mèdiques de les immunoglobulines	78
3.7.1. Immunoglobulines i sèpsia	82
3.7.1.1. Comportament de les Igs a la sèpsia	83
3.7.1.2. Raonament biològic per l'administració d'IGIV	85
3.7.1.3. Tipus d'Igs endovenoses	88
3.7.1.4. Estudis i metanàlisi sobre l'ús d'IGIV	90
3.7.2. Efectes adversos del tractament amb Igs	98
JUSTIFICACIÓ	101
HIPÒTESI	103
OBJECTIUS	107
1. Objectiu I	109
2. Objectiu II	109
3. Objectiu III	109
MATERIALS I MÈTODES	111
1. Estudi I	114
2. Estudi II	117

3. Estudi III	119
RESULTATS	123
1. Estudi I	125
2. Estudi II	136
3. Estudi III	146
DISCUSSIÓ	157
CONCLUSIONS	173
ANNEXES	177
1. Annex I: Escales de gravetat	179
2. Annex II: Variables Estudi II i III	181
3. Annex III: Sensibilitat/Especificitat IgG2	183
4. Annex IV: Articles resultants de la tesi	187
BIBLIOGRAFIA	229

INDEX DE FIGURES

Figura 1: Sistema immune a la PAC	39
Figura 2: Resposta immunitària	41
Figura 3: Resposta inflamatòria	44
Figura 4: Cèl·lules del sistema immune adaptatiu	47
Figura 5: Fases de la immunitat adaptativa	50
Figura 6: Història dels anticossos	54
Figura 7: Immunoglobulines per electroforesis	55
Figura 8: Unitat estructural bàsica de les Igs	57
Figura 9: Regions hipervariables	57
Figura 10: Cadena J i proteïna secretora	58
Figura 11: Estructura de les d'Igs humanes	59
Figura 12: Neutralització dels microorganismes i toxines	61
Figura 13: Oponització i fagocitosis de microorganisme	63
Figura 14: Citotoxicitat cel·lular	63
Figura 15: Activació del complement (via clàssica)	65
Figura 16: Resposta immunitària primària i secundària	68
Figura 17: Resposta immunitària primària i secundària	68
Figura 18: Impacte de les IGIV en els sistema immune	79
Figura 19: Diagrama de flux de la població d'estudi	125
Figura 20: Progressió d'Igs de la fase aguda a la fase de convalsència	130
Figura 21: IgG total a la fase aguda i als dos anys	132

Figura 22: IgG1 a la fase aguda i als dos anys	133
Figura 23: IgG2 a la fase aguda i als dos anys	133
Figura 24: Nivells d'Igs de les tres poblacions	139
Figura 25: Nivells sèrics d'Igs entre els pacients amb PAC de UCI vs no UCI	140
Figura 26: Nivells baixos d'Igs segons els grups de pacients amb PAC	142
Figura 27: Nivells baixos d'Igs de pacients amb PAC no UCI vs UCI	143
Figura 28: Comparació dels pacients vius i morts i els nivells baixos d'Igs	146
Figura 29: Nivells d'Igs dels pacients amb PAC de planta vs UCI	148
Figura 30: Àrea sota la corba del model multivariat	153
Figura 31: Corba Kaplan-Meier de supervivència (anàlisi A)	153
Figura 32: Corba Kaplan-Meier de supervivència (anàlisi B)	155

INDEX DE TAULES

Taula 1: Pneumònia comunitària greu	30
Taula 2: Factors de risc de la PAC	31
Taula 3: Recomanació del tractament antibiòtic empíric de la PAC.....	36
Taula 4: Teràpies immunomoduladores	38
Taula 5: Definicions i criteris de sèpsia. Conferència de consens 1991	42
Taula 6: Criteris diagnòstics de sèpsia. Conferència de consens 2001	43
Taula 7: Funcions i distribucions de les Igs	71
Taula 8: Immunodeficiències primàries i secundàries humorals	72
Taula 9: Dèficits d'Igs en les principals immunodeficiències adquirides	77
Taula 10: Indicacions de tractament amb IGIV	81
Taula 11: Principals mecanismes d'acció de les IGIV en el sistema immune.....	86
Taula 12: Anticossos monoclonals a la sèpsia	88
Taula 13: Propietats de diferents productes amb Ig	89
Taula 14: Antagonistes de les citoquines	90
Taula 15: Estudis de sèpsia i teràpia amb IGIV	91
Taula 16: Resultats de les metanàlisis sobre IGIV	98
Taula 17: Efectes adversos de les Igs	99
Taula 18: Percentils de les Igs	121
Taula 19: Comparació dels nivells d'Igs entre casos i controls	127
Taula 20: Igs baixes i factors de risc i pronòstics de la PAC	128
Taula 21: Valors de la IgG total, IgG1 i IgG2 a la fase aguda i als dos anys	132

Taula 22: Relació d'Igs en fase aguda i convalescent i els factors de risc i pronòstics de la PAC	135
Taula 23: Descriptiu de les tres poblacions	136
Taula 24: Descriptiu de les dues poblacions (UCI - no UCI)	137
Taula 25: Anàlisi descriptiu de variables quantitatives (UCI - no UCI)	138
Taula 26: Etiologia de les tres poblacions	138
Taula 27: Nivells sèrics d'Igs de les tres poblacions	139
Taula 28: Nivells d'Igs en pacients amb PAC de UCI i no UCI	140
Taula 29: Nivells baixos d'Igs segons els grups de pacients amb PAC	141
Taula 30: Nivells baixos d'Igs en dos grups de pacients (UCI – no UCI)	143
Taula 31: Associació entre els nivells baixos d'Igs i Score CURB65	144
Taula 32: Anàlisi multivariat dels factors de risc d'ingrés a UCI	144
Taula 33: Factors de risc de mortalitat	145
Taula 34: Anàlisi descriptiu dels pacients amb PAC de planta i UCI	147
Taula 35: Comparació d'Igs dels pacients amb PAC de planta i UCI	148
Taula 36: Comparació dels nivells d'Igs entre vius i morts	149
Taula 37: Regressió de Cox univariada de cada logaritme d'Igs	150
Taula 38: Anàlisi univariada dels factors de risc de mortalitat (anàlisi A)	151
Taula 39: Anàlisi del punt de tall d'IgG2 associat a mortalitat	152
Taula 40: Anàlisi multivariat de factors de risc de mortalitat (anàlisi A)	152
Taula 41: Anàlisi univariada dels factors de risc de mortalitat (anàlisi B)	154
Taula 42: Anàlisi multivariat dels factors de risc de mortalitat (anàlisi B)	155
Taula 43: Anàlisi multivariat de factors de risc associats a ingrés a UCI	156

PREFACI

L'Hospital de Mataró té una línia de recerca ben establerta en l'àmbit de la infecció respiratòria de via baixa des de fa més de 27 anys. La creació del grup de recerca de base poblacional del Maresme, conegut com GEMPAC, acreditat per la AGAUR i integrat en el CIBER de Respiratori i en la xarxa europea GRACE, ha permès la realització i publicació d'estudis sobre pneumònia comunitària tant a l'àmbit ambulatori com l'hospitalari.

La Unitat de Medicina Intensiva de l'Hospital de Mataró té una àmplia experiència i capacitat d'acció en el suport dels pacients amb insuficiència respiratòria aguda per pneumònies comunitàries greus. Tot i que s'ha avançat en el diagnòstic i tractament precoç de les pneumònies, en les tècniques de ventilació i en el suport respiratori, la mortalitat per pneumònia continua essent elevada. Es per això que investiguem sobre altres possibles factors que puguin ser modificats per millorar el pronòstic.

Aquest treball consta de tres estudis. El primer consisteix en avaluar el comportament de les immunoglobulines en els pacients amb PAC. El segon en estudiar si hi ha vinculació entre la gravetat de la pneumònia i les immunoglobulines. I el tercer en buscar si les immunoglobulines impacten sobre la mortalitat dels pacients amb PAC.

Per tal de conservar la unitat dels tres estudis, ja que són complementaris, s'han dissenyat uns objectius i s'ha fet una discussió conjunta amb els resultats obtinguts.

INTRODUCCIÓ

1. LA PNEUMÒNIA ADQUIRIDA A LA COMUNITAT

La pneumònia adquirida a la comunitat (PAC) consisteix en una infecció aguda del parènquima pulmonar que es dona en pacients que viuen a la comunitat i no hospitalitzats recentment. Tot i els avenços en prevenció, en el diagnòstic microbiològic i en els tractaments, continua essent una malaltia amb elevada morbiditat i mortalitat, i associada a costos sanitaris significatius [1,2].

1.1. Epidemiologia

En estudis de base poblacional, la incidència anual de PAC varia entre 1.6 i 13.4 casos per 1000 habitants, i el requeriment d'hospitalització es de un 22-61.4% [3-5]. Aproximadament el 10% dels pacients hospitalitzats requereixen atenció a la Unitat de Cures Intensives (UCI) [3]. Dels pacients admesos a la UCI, entre el 44-83% requereixen ventilació mecànica en el moment de l'admissió i més d'un 50% presenten un xoc sèptic concomitant, sent la mortalitat de 11-56% [6].

En el 2010, l'estudi de la *Global Burden of Disease* va situar les infeccions del tracte respiratori baix, inclosa la pneumònia, com la quarta causa més freqüent de mort, superada només per l'infart, l'íctus i la malaltia pulmonar crònica. I hem de tenir en compte que la PAC és la segona malaltia en el *ranking* de patologies que condicionen "anys de vida perduda" [7].

La freqüència de PAC varia segons les estacions, aquesta és més elevada en els mesos d'hivern quan les infeccions per virus *Influenza* és més prevalent [8]. És més freqüents en homes que en dones i en la raça negra, si comparem amb els caucàsics, la qual cosa pot està relacionada amb els polimorfismes genètics i els factors socioeconòmics. Finalment,

la incidència s'incrementa amb l'edat, possiblement per la disminució de l'efecte de rastreig mucociliar, menor eficàcia de la funció immunològica i major risc de broncoaspiració amb augment de la colonització orofaríngia [9] pel que donat l'envelliment global de la població mundial, en les següents dècades viurem un increment d'aquesta malaltia [10].

1.2. Definicions

La PAC es defineix com una infecció aguda del parènquima pulmonar en pacients no hospitalitzats prèviament durant la darrera setmana [4]. El diagnòstic es basa en manifestacions sistèmiques, com febre, calfreds, miàlgies, cefalea o astènia i d'altres símptomes més focals com la tos, l'expectoració purulenta, el dolor pleurític o la dispnea. A l'exploració, els signes més freqüents són febre, taquipnea, taquicàrdia i signes de condensació pulmonar amb presència de crepitants a l'auscultació. Les dades analítiques suggestives de pneumònia són la leucocitosi, la leucopènia, l'elevació de la proteïna C reactiva i de la procalcitonina en plasma. La confirmació diagnòstica ve donada per la imatge de condensació o opacitat a la radiografia de tòrax que és pot endarrerir fins a 24-48 hores després de l'aparició de les manifestacions clíniques. Excepcionalment podem detectar infiltrats alveolars en la TAC toràcica tot i que la radiografia de tòrax sigui normal.

Tot i així en els estudis epidemiològics cal assegurar un seguiment clínic de la malaltia que ens descarti altres patologies que es poden presentar amb els mateixos signes i símptomes anunciats com són el tromboembolisme pulmonar amb infart pulmonar, l'hemorràgia alveolar, l'atelèctasi pulmonar, la neoplàsia pulmonar, l'edema agut de

pulmó, l' alveolitis al·lèrgica extrínseca, l' eosinofília pulmonar, o la bronquiolitis obliterant amb pneumònia organitzativa.

1.3. Classificació de la PAC

Clàssicament, la PAC es va diferenciar en pneumònia típica o atípica, en funció dels patògens causants. Al 1993, la American Thoracic Society (ATS) va modificar aquesta classificació per una més pràctica, on integrava aspectes clínics, etiològics, terapèutics i de pronòstic [11]. A l'any 2001, unes noves guies van incloure aquells factors que augmentaven el risc d'adquirir una infecció per microorganismes resistents [12]. Durant els anys 2000-2007 tant la Societat Americana de Malalties Infeccioses (*Infectious Diseases Society of America, IDSA*), com la Societat Europea de Malalties Respiratòries (ERS), com la Societat Britànica de Malalties del Tòrax (BTS) també van publicar les seves guies sobre PAC.

Finalment, l'any 2007 es publiquen unes recomanacions conjuntes de diagnòstic i tractament de la PAC en major de 18 anys, amb l'objectiu d'identificar de forma precoç i unànime els pacients amb PAC i PAC greu, i definir quins requerien d'ingrés a UCI [13]. Queden exclosos d'aquestes guies els pacients immunocompromesos, ja sigui per rebre quimioteràpia o altes dosis de corticoides durant més de 30 dies, els pacients amb alguna immunodeficiència congènita o adquirida o els pacients HIV amb $<350 \text{ CD4/mm}^3$.

Hi ha dos tipus de pneumònies comunitàries amb entitat pròpia, d'una banda la pneumònia associada als cuidats mèdics (HCAP), la qual disposa d'un maneig i tractament diferent i ben estructurat per unes guies específiques [14], i d'altra banda la pneumònia comunitària greu que requereix d'ingrés a UCI, quina definició queda descrita en la *Taula*

1. A més de les recomanacions de la ATS/IDSA, s'han desenvolupat altres puntuacions o *scores* per avaluar la gravetat i la necessitat d'ingrés a UCI, com per exemple el CURB [15], CURB-65 [16], PSI [17], PS-CURXO80 [18], SMART-COP [19] o el CAP-PIRO[20]. Òbviament, la decisió d'ingrés o no a la UCI dependrà de nombrosos factors, a vegades no només clínics o analítics sinó també ètics i morals (situació basal i autonomia del pacient, criteris del metge responsable, voluntats del pacient o familiars...).

Taula 1. *Pneumònia comunitària Greu.*

Criteris de Pneumònia Greu que requereix ingrés a UCI ATS/IDSA 2007 [11]
<p>Criteris Majors</p> <ul style="list-style-type: none"> • Necessitat de Ventilació Mecànica • Xoc sèptic amb necessitat de fàrmacs vasoactius <p>Criteris Menors</p> <ul style="list-style-type: none"> • Freqüència respiratòria > 30 per minut • Confusió / desorientació. • Plaquetopènia (<100.000/mm³) • Infiltrats multi lobars • PaO₂/FiO₂ ≤ 250mmHg • Urèmia (BUN>20mg/dL) • Hipotèrmia (Temperatura central < 36°C) • Leucopènia (<4.000/ mm³) • Hipotensió que requereix suport amb volum important
<p><i>Criteris d'ingrés a UCI: al menys 1 criteri major o mínim 3 criteris menors.</i></p>

1.4. Patogènesis.

Tot i la constant exposició a micropartícules o microorganismes que hi ha a l'ambient, i la contaminació orofaríngia per determinats bacteris, el tracte respiratori inferior es manté estèril gràcies als mecanismes de defensa pulmonars innats i adquirits. El desenvolupament d'una PAC ve condicionat d'una banda per la càrrega del microorganisme infectant, d'altra banda per la virulència del patogen i finalment per la capacitat de l'hoste per defensar-se de l'atac bactericida [21,22]. La *taula 2* mostra algunes de les condicions de l'hoste que predisposen a patir una pneumònia.

Taula 2. Factors de Risc de la PAC

Factors de Risc de Pneumònia Adquirida a la Comunitat [23-27]
<ul style="list-style-type: none">• Nivell de consciència alterat.• Tabac• Consum d'alcohol• Hipoxèmia• Acidosis• Inhalació de Tòxics• Edema Pulmonar• Urèmia• Malnutrició• Immunosupressió (neoplàsia d'òrgan sòlid o cèl·lules hematopoètiques, quimioteràpia, corticoides crònics, HIV, teràpies biològiques...)• Edat avançada• Malaltia pulmonar estructural (bronquiectasis, fibrosis quística, MPOC, pneumònia prèvia o bronquitis).• Disfunció ciliar (Síndrome de Kartagener, síndrome d'immobilitat ciliar)• Síndrome de Young• Disfàgia• Infecció viral respiratòria• Malignitat pulmonar• Obstrucció bronquial (per estenosis, tumor o externa)• Relacionat amb fàrmacs: antipsicòtics, glucocorticoides inhalats o increment del pH gàstric per blocadors H2 o antiàcids.

1.5. Etiologia

Hi ha una àmplia varietat de microorganismes que produeixen PAC, ja siguin bacteris, virus, fongs o paràsits. De forma clàssica, ja hem comentat, que diferenciàvem les pneumònies en típiques i atípiques en funció dels patògens. Els microorganismes típics inclouen *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, Streptococcus grup A, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, anaerobis, i enterobacteris bacils gram negatius. I entre els patògens atípics trobem *Legionella* spp., *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* i *psittaci*, i els virus. Tot i la realització de test microbiològics rutinaris, només es confirma l'etiologia microbiològica de les PAC greus en la meitat dels pacients.

No podem obviar la presència, cada vegada més preocupant, de patògens resistents als antibiòtics. La resistència del *Streptococcus pneumoniae* a la penicil·lina va ser reportada per primera vegada al 1977 [28] i des de llavors s'han generat resistències a betalactàmics, macròlids, tetraciclins i fluorquinolones, entre d'altres. El principal factor de risc d'adquirir resistències és l'exposició recent a antibiòtics, en els tres mesos previs, pel que es recomana evitar tractaments antibiòtics crònics [29]. El *Staphylococcus aureus* meticil·lina resistent (SARM) que causa majoritàriament pneumònies nosocomials o HCAP, però la seva prevalença s'ha vist augmentada en els últims anys com causant de pneumònies comunitàries. Actualment s'estima que hi ha uns 0.51-0.64 casos/100.000 habitants [30]. La prevalença als Estats Units és major, amb una taxa global de pneumònia per SARM adquirit a la comunitat del 2.4%, que es veu incrementada en els pacients ingressats a la UCI [31,32]. Hi ha un SARM comunitari productor d'una toxina (Panton-Valentine leucocidin) que provoca pneumònies cavitades o necrotitzants,

abscessos pulmonars o empiema, és de progressió ràpida, més freqüent entre nens i gent jove i s'associa a una elevada mortalitat [33-35]. No podem deixar de mencionar l'impacte de les pneumònies víriques, moltes vegades associades a les bacterianes. La grip estacional té lloc en els mesos d'hivern provocant una major morbiditat, mortalitat i elevant els costos sanitaris. L'edat avançada és el principal factor de risc d'ingrés hospitalari dels pacient amb grip. Recentment la pandèmia del virus influenza A H1N1/09 va produir més de 4000 morts, i va presentar algunes característiques diferents a la grip convencional, com ara que la població infectada era jove (32 anys), tenien malaltia pulmonar crònica (41%) o obesitat (33%) [36]. La majoria de pacients van desenvolupar una pneumonitis bilateral difusa i ràpidament progressiva que en més del 80% va requerir ventilació mecànica. Altres virus, més localitzats a zones asiàtiques, però d'elevada agressivitat pel tracte respiratori, són el H5N1 o el coronavirus SARS.

1.6. Diagnòstic

El diagnòstic de la PAC inclou criteris clínics, avaluació radiològica i test microbiològics per conèixer la causa.

1.6.1. Criteris Clínics.

Els símptomes clínics més freqüents, en la PAC són: tos (41%), febre (28%), dispnea, dolor pleurític (5%), producció d'esput (30%). També poden presentar trastorns de consciència (32%) o símptomes gastrointestinals [37].

A l'exploració física es comú la febre (menys important en els ancians), la taquicàrdia i la taquipnea [38]. En els casos de PAC greu, si presenten hipoxèmia ($\text{PaO}_2 < 55\text{mmHg}$ tot i l'oxigen suplementari) o hipercàpnia (increment $\text{PaCO}_2 > 10\text{mmHg}$ amb acidosis

respiratòria) poden requerir intubació i suport amb ventilació mecànica. Alguns casos poden presentar xoc sèptic (pressió arterial sistòlica <90mmHg) que pot reanimar-se amb seroteràpia i/o drogues vasoactives .

A nivell de laboratori, la leucocitosis és comú, així com la desviació a l'esquerra o presència de formes joves en sang. La leucopènia també es pot presentar, sobretot en pacients crítics. I en alguns casos poden tenir disfunció d'altres òrgans (fallida hepàtica, insuficiència renal aguda, acidosis làctica, encefalopatia, coagulopatia).

Existeixen una sèrie de biomarcadors biològics que ens poden ajudar en el diagnòstic i l'evolució. Els més utilitzats són la proteïna C-reactiva (PCR) i la procacitonina (PCT). La PCR és un reactant de fase aguda de producció hepàtica en resposta a la producció de citoquines (Interleuquina 6 i Factor de necrosis tumoral) que s'activen en la cascada inflamatòria, com explicarem més endavant. No és un marcador ni sensible ni específic d'infecció, però nivells elevats s'associen directament amb la infecció [39,40]. La PCR també s'eleva en les infeccions virals, però menys que en les bacterianes [41-43]. Els nivells de PCR també es correlacionen amb la gravetat de la malaltia, tant es així que nivells de PCR són més elevats en pacients amb PAC hospitalitzats que en els que són tractats ambulatoriament [41]. La procalcitonina (PCT), és un precursor de la calcitonina, que s'allibera en resposta a les toxines dels microorganismes (com polisacàrids de la paret dels gram negatius) i mediadors inflamatoris (IL-6, IL1 o el TNF) que produeix l'hoste quan hi ha una infecció bacteriana. Sembla que la sensibilitat de la PCT per la pneumònia bacteriana és major que la de la PCR [44], i que hi ha una correlació entre els nivells de PCT, la gravetat de la malaltia, la mortalitat i la bacterièmia [45-47]. A nivell clínic, la PCT resulta útil per diferenciar entre la pneumònia bacteriana de la vírica, ja que en les

bacterianes hi ha més elevació [48]; i d'altra banda ens permet fer un ús més racional dels antibiòtics, ja que hi ha estudis que suggereixen que valors inferiors a 0.1mcg/L desaconsellen l'ús d'antimicrobians [49].

1.6.2. Criteris Radiològics

La presència d'opacitat a la radiografia de tòrax és el *gold standard* del diagnòstic radiològic de la PAC. Les troballes radiològiques inclouen la consolidació lobar o multilobar, l'infiltrat intersticial i la cavitació. En els pacients amb PAC greu ingressats a UCI sovint és necessari la realització d'una tomografia computeritzada, si es sospiten complicacions (empiema o abscessos).

1.6.3. Test microbiològics

Tot i que hem comentat que arribar a un diagnòstic etiològic és sovint infructuós i que l'antibiòtic s'indica de forma empírica, és important intentar aïllar el patogen per ajustar el tractament. Al 2007 les guies de consens de la IDSA/ATS [13] van recomanar fer el diagnòstic microbiològic, mitjançant hemocultius pretractament, antígens urinaris pel pneumococ i la Legionel·la i cultiu d'esput (expectorat, endotraqueal o per broncoscòpia). Els test per virus respiratoris s'ha de fer servir en les PAC greus a l'època gripal.

1.7. Tractaments convencionals

L'antibiòtic empíric ha de ser iniciat el més aviat possible, una vegada diagnosticada la PAC [50]. Tot i que hi ha varies guies publicades sobre el maneig i tractament de la PAC [13,15], hem d'adaptar els tractaments en el nostre ambient, ja que l'epidemiologia local pot ser diferent, i també les resistències de la nostra àrea. La *taula 3* mostra la pauta antibiòtica recomanada segons la IDSA/ATS per la PAC, per la sospita de la PAC bacteriana.

Taula 3. Recomanació del tractament antibiòtic empíric per la PAC. IDSA/ATS [13].

<p>Outpatient treatment</p> <ol style="list-style-type: none">1. Previously healthy and no use of antimicrobials within the previous 3 months A macrolide (strong recommendation; level I evidence) Doxycycline (weak recommendation; level III evidence)2. Presence of comorbidities such as chronic heart, lung, liver or renal disease; diabetes mellitus; alcoholism; malignancies; asplenia; immunosuppressing conditions or use of immunosuppressing drugs; or use of antimicrobials within the previous 3 months (in which case an alternative from a different class should be selected) A respiratory fluoroquinolone (moxifloxacin, gemifloxacin, or levofloxacin [750 mg]) (strong recommendation; level I evidence) A β-lactam plus a macrolide (strong recommendation; level I evidence)3. In regions with a high rate (>25%) of infection with high-level (MIC ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$) macrolide-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i>, consider use of alternative agents listed above in (2) for patients without comorbidities (moderate recommendation; level III evidence) <p>Inpatients, non-ICU treatment</p> <p>A respiratory fluoroquinolone (strong recommendation; level I evidence)</p> <p>A β-lactam plus a macrolide (strong recommendation; level I evidence)</p> <p>Inpatients, ICU treatment</p> <p>A β-lactam (cefotaxime, ceftriaxone, or ampicillin-sulbactam) plus either azithromycin (level II evidence) or a respiratory fluoroquinolone (level I evidence) (strong recommendation) (for penicillin-allergic patients, a respiratory fluoroquinolone and aztreonam are recommended)</p> <p>Special concerns</p> <p>If <i>Pseudomonas</i> is a consideration</p> <p>An antipneumococcal, antipseudomonal β-lactam (piperacillin-tazobactam, cefepime, imipenem, or meropenem) plus either ciprofloxacin or levofloxacin (750 mg)</p> <p>or</p> <p>The above β-lactam plus an aminoglycoside and azithromycin</p> <p>or</p> <p>The above β-lactam plus an aminoglycoside and an antipneumococcal fluoroquinolone (for penicillin-allergic patients, substitute aztreonam for above β-lactam) (moderate recommendation; level III evidence)</p> <p>If CA-MRSA is a consideration, add vancomycin or linezolid (moderate recommendation; level III evidence)</p> <hr/> <p>NOTE. CA-MRSA, community-acquired methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>; ICU, intensive care unit.</p>
--

Per la sospita de PAC vírica o gripal, el tractament empíric s'ha d'iniciar amb un inhibidor de la neuraminidasa, en aquells pacients que presentin clínica compatible durant l'estació gripal. L'oseltamivir es l'antivíric preferent en els pacients amb ventilació mecànica. L'inici precoç del tractament antiviral (entre les primeres 48 hores dels símptomes) millora l'eficàcia [51].

En els casos de PAC greu es planteja el tractament amb combinació d'antibiòtics, perquè s'ha vist una milloria dels pacients amb pneumònia pneumocòccica, quan s'afegeixen macròlids. El benefici dels macròlids es basa en la immunomodulació, ja que regulen l'adhesió leucocitària i inhibeixen la producció de citoquines inflamatòries [52].

1.7.1. Teràpia Dirigida. Temps d'inici i durada .

És important l'aïllament del patogen o diagnòstic microbiològic per ajustar l'antibioticoteràpia segons la sensibilitat a diferents antimicrobians, reduint l'espectre per tal d'evitar resistències. Respecte al temps, l'antibiòtic s'ha de donar de forma precoç, ja que la seva demora incrementa la mortalitat [53]. Respecte a la durada de l'antibiòtic, la majoria de pacients amb PAC reben de 7 a 10 dies de tractament, però la durada varia segons la gravetat de la infecció, les propietats de l'antibiòtic, la immunitat del pacient i la resposta clínica. Per tant el tractament ha de ser individualitzat i seguir protocols d'antibiòtics per minimitzar la durada i ajustar a l'espectre microbiològic [54].

1.8. Noves terapèutiques

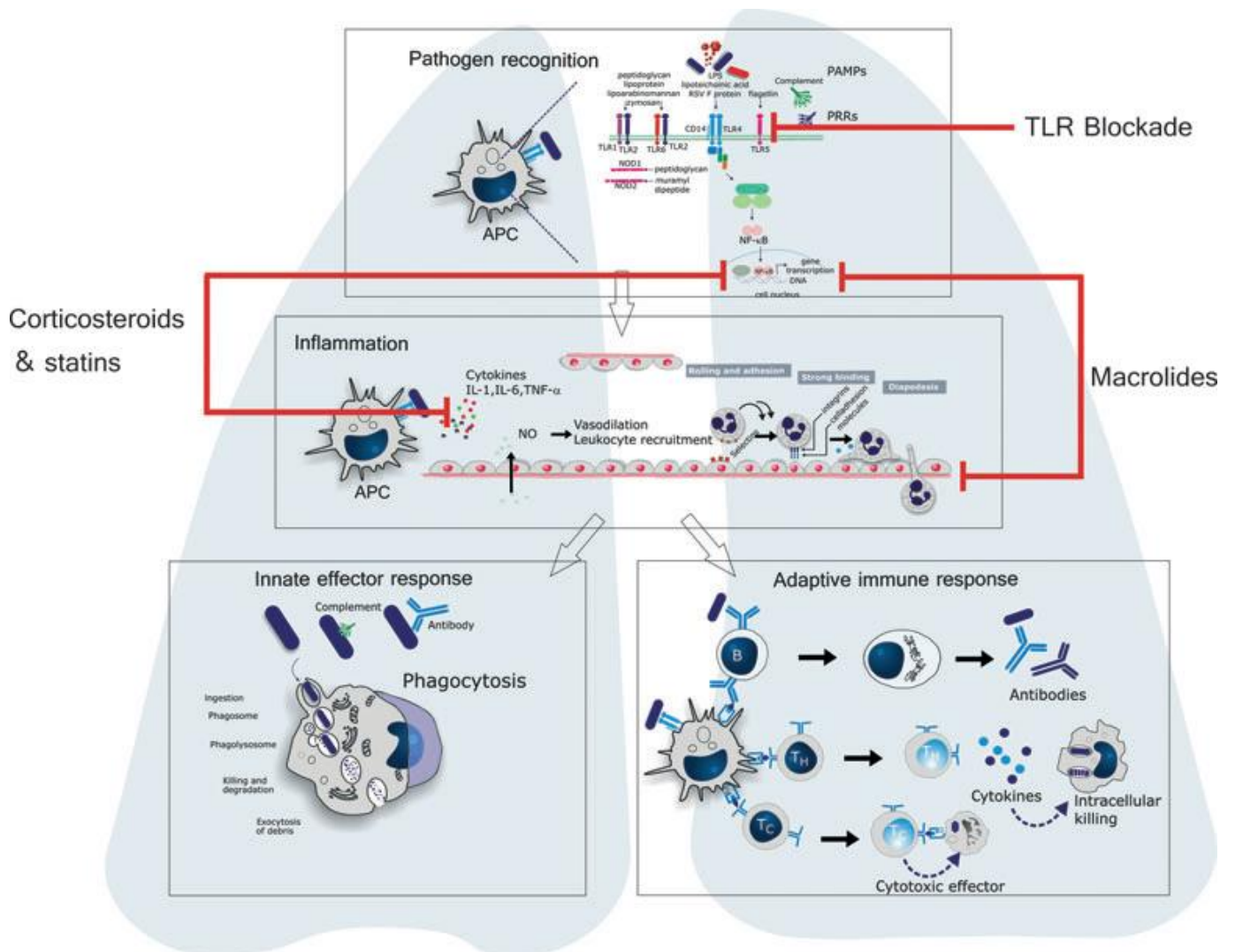
Tot i els avenços tecnològics per millorar en el diagnòstic de la PAC o l'ús d'antibiòtics d'ampli espectre, la mortalitat de la PAC està estancada i no ha disminuït en els últims anys. De fet, una vegada administrat l'antibiòtic, en les primeres 24 hores aconseguim

eradicar la majoria de bacteris, tant en secrecions bronquials com a la sang. Però en canvi, les taxes de mortalitat de la PAC són encara de 5.1% en els pacients tractats a domicili i del 36.5% en els que requereixen de UCI. Aquest fracàs terapèutic s'atribueix a la cascada inflamatòria que s'activa durant la infecció i que de forma incontrolada aboca a un fracàs multiorgànic. En aquest context, s'està investigant per trobar agents immunomoduladors i teràpies no antibiòtiques que puguin millorar la supervivència dels pacients. La *taula 4* mostra les principals teràpies immunomoduladores, i la *figura 1* els diferents llocs d'actuació de les medicacions antiinflamatòries.

Taula 4. Teràpies immunomoduladores

Teràpies immunomoduladores [55]
Agents antiinflamatoris
<ul style="list-style-type: none">• Corticoides• Inhibidors de les Prostaglandines<ul style="list-style-type: none">○ Indometacina○ Àcid acetilsalicílic
Agents anticoagulants
<ul style="list-style-type: none">• Proteïna C activada• Inhibidor del factor tissular• Heparina
Macròlids
Surfactant
Immunoglobulines
Estatines i inhibidors de l'enzim conversor de l'angiotensina (IECA)
Interferó gamma.

Figura 1. Sistema Immune a la PAC i mecanismes d'acció de les substàncies antiinflamatòries [56].



En aquest sentit, l'aportació d'aquest treball és aprofundir en conèixer quin és l'impacte de les immunoglobulines (Igs) a la PAC. Per això cal conèixer quina és la resposta immunitària davant de les infeccions, com s'activa la cascada inflamatòria i quina implicació tenen les Igs en aquesta infecció.

2. LA RESPOSTA IMMUNITÀRIA

El sistema immunitari és el conjunt de cèl·lules i molècules que s'activen davant d'una noxa, ja sigui un microorganisme infecciós o alguns dels seus components, així com proteïnes o agents químics que són interpretats per l'organisme com aliens a ell. La reacció conjunta i coordinada del sistema immunitari es coneix com resposta immunitària. Aquesta resposta inflamatòria activa els mecanismes humorals i cel·lulars que generen un seguit de reaccions fisiològiques i a vegades també patològiques.

La primera barrera defensiva en front de l'entrada de microorganismes és la formada per la superfície de la pell i les mucoses. Si aconsegueixen traspasar aquesta barrera, s'activa la immunitat innata, que reconeix una sèrie de components microbians mitjançant l'expressió de receptors codificats al genoma (PAMP's: pathogen associated molecular patters) [57], i que no requereix contacte previ amb l'intrús, per tant la seva activació és d'inducció ràpida i constant. La immunitat innata activa els neutròfils i macròfags encarregats de la fagocitosis del microorganismes, i secreten citoquines i factors quimiotàctics. Si els patògens superen la capacitat defensiva dels components humorals i dels fagòcits, s'activa l'anomenada resposta de fase aguda, que consisteix en la producció de citoquines pro-inflamatòries (FNT α i IL) i antiinflamatòries (IL4, IL10 i IL13), així com l'activació de les cèl·lules dendrítiques que presentaran als antígens als limfòcits mitjançant molècules co-estimuladors (CD80, CD86) per iniciar la immunitat adquirida. La immunitat adquirida té l'habilitat de recordar i adaptar-se al microorganisme, i aquesta capacitat és individual, no es transmet genèticament, sinó que es genera al llarg de la vida, excepte en la fase puerperal que existeix el pas transplacentari d'anticossos (Acs). La

immunitat adquirida reconeix als microorganismes mitjançant Acs i receptors de cèl·lules T [58,59].

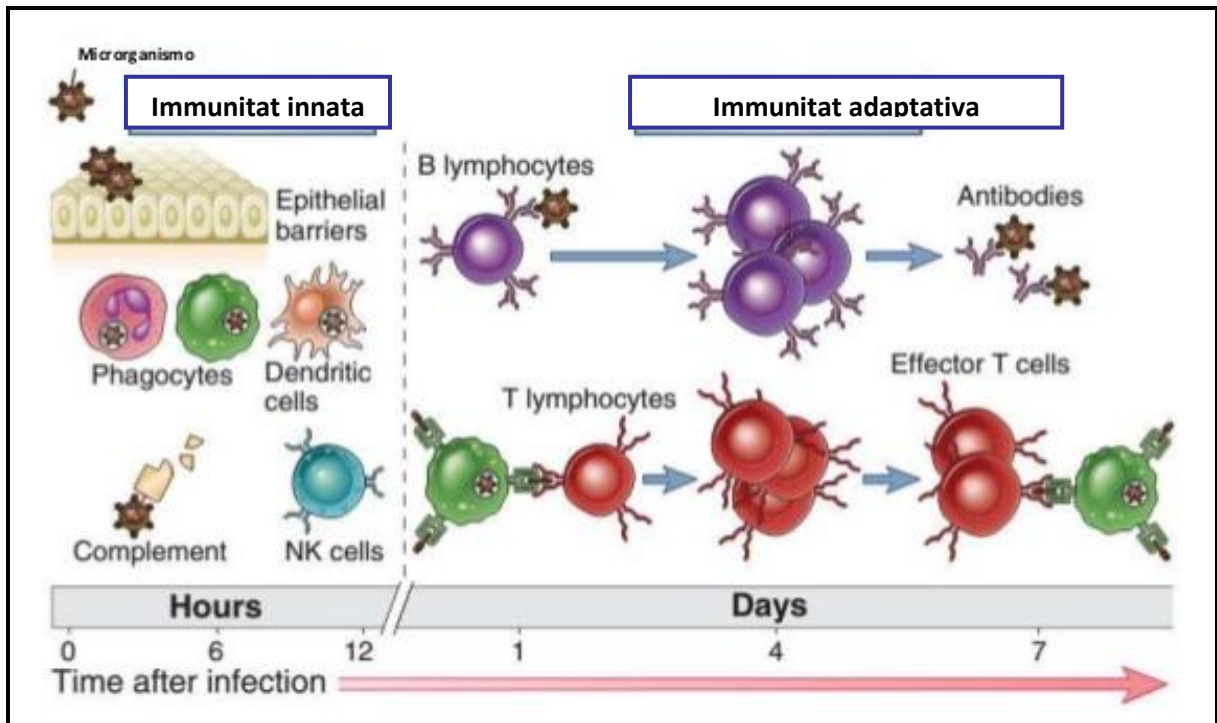


Figura 2. Resposta immunitària. Figura modificada de Abbas et al. *Cellular and Molecular Immunology*. [58].

2.1. Patogènia de la infecció

La malaltia infecciosa és el conjunt de signes i símptomes resultants de la disfunció orgànica per la intrusió d'un microorganisme o algú dels seus components. Davant d'un agent infecciós s'activa una resposta inflamatòria amb l'objectiu de confinar la infecció en el lloc d'origen, el balanç entre la virulència del microorganisme i la immunitat de l'hoste determinarà el resultat del procés final.

La conferència de consens sobre sèpsia del 1991 [60], i posteriorment del 2001 [61], van definir diferents conceptes per establir un diagnòstic de l'estadi evolutiu clínic de la infecció, per tal de poder implementar diferents pautes de tractament mèdic segons la

gravetat del procés infecciós i disminuir la morbiditat i mortalitat que ocasiona [Taula 5 i 6].

Taula 5. Definicions i criteris de Sèpsia. Conferència de Consens 1991 [60].

Síndrome de Resposta Inflamatòria Sistèmica (SIRS).
<p>Presència de dos o més dels següents:</p> <ul style="list-style-type: none">• Febre > 38°C o hipotèrmia menor de 36°C (temperatura central).• Taquicàrdia (Freqüència cardíaca > 90bpm)• Taquipnea (més de 20rpm o PaCO₂ <32mmHg) o necessitat de ventilació mecànica• Alteració del recompte de leucòcits (>12.000 o < 4000 leucos/mm³, o més 10% de caiats).
Síndromes sèptics (Estadis de la Sèpsia).
<p>Sèpsia: SIRS degut a una infecció documentada, clínica i/o microbiològicament.</p> <p>Sèpsia Greu: sèpsia amb disfunció d'òrgans associada a la infecció, hipotensió o hipoperfusió. (Disfunció d'òrgans segons sistema SOFA).</p> <p>Sèpsia Greu d'Alt Risc: sèpsia amb fallida de dos o més òrgans, o amb puntuació APACHE II en les últimes 24h de més de 24 punts.</p> <p>Xoc sèptic: hipotensió deguda a sèpsia (pressió arterial sistòlica < 90mmHg o disminució d'aquesta en 40mmHg respecte a la basal), que persisteix tot i l'administració de líquids, acompanyada d'alteracions de la perfusió (acidosis metabòlica o hiperlactacidèmia), o disfunció d'òrgans; o necessitat de fàrmacs vasoactius per mantenir la pressió arterial.</p>

Taula 6. Criteris diagnòstics de Sèpsia. Conferència de consens 2001 [61].

Infecció sospitada o documentada, i "alguns" dels següents:
Paràmetres generals: febre, hipotèrmia, taquicàrdia, taquipnea, alteració de l'estat mental, aparició d'edemes o balanç hídric positiu, hiperglucèmia.
Paràmetres Inflamatoris: leucocitosis, leucopènia, desviació a l'esquerra, elevació de proteïna C reactiva, elevació de procalcitonina.
Paràmetres Hemodinàmics: hipotensió arterial, dessaturació venosa mixta d'oxigen, índex cardíac elevat, paràmetres de disfunció d'òrgans, hipoxèmia arterial, oligúria aguda, augment de creatinina sèrica, prolongació de temps de coagulació (INR, TPT), trombopènia, ili, hiperbilirrubinèmia.
Paràmetres de perfusió tissular: hiperlactacidèmia, emplenament capil·lar lent, livideses.

El tractament de la infecció inclou agents antimicrobians, control del focus (tractament quirúrgic), i si l'afectació és sistèmica s'ha de fer suport dels òrgans afectats, suport hemodinàmic i suport nutricional. La recerca d'agents immunomoduladors ha anat adquirint cada vegada més protagonisme en el disseny de les noves teràpies antiinfeccioses.

2.2. Immunitat Innata

La immunitat innata o també anomenada immunitat natural o espontània, és la primera línia de defensa en front als microorganismes. Els principals components són:

- Barreres físiques i químiques (epitelis i substàncies que es produeixen a la seva superfície, com ara la NAMLAA o el surfactant).
- Cèl·lules fagocítiques (neutròfils i macròfags) i limfòcits citolítics naturals (Natural Killers, NK).

- Proteïnes sanguínies (factors del complement i mediadors de la inflamació).
- Citoquines.

Les característiques de la immunitat innata és que és inespecífica, immediata però sense memòria immunològica. De forma resumida, podem dir que quan un patogen envaeix l'organisme s'activen uns receptors (receptor CD4, Toll-like receptors, receptors dels pèptids formilats –FPRs, *Scavenger receptor family*, proteïnes Nod, lectina fixadora de manosa-MBL, Proteïna C reactiva, component amiloide P del sèrum-SAP) que tenen la funcions de: opsonització, activació del complement, activació de la cascada de la coagulació, fagocitosis, activació de senyals proinflamatoris i inducció de l'apoptosi.

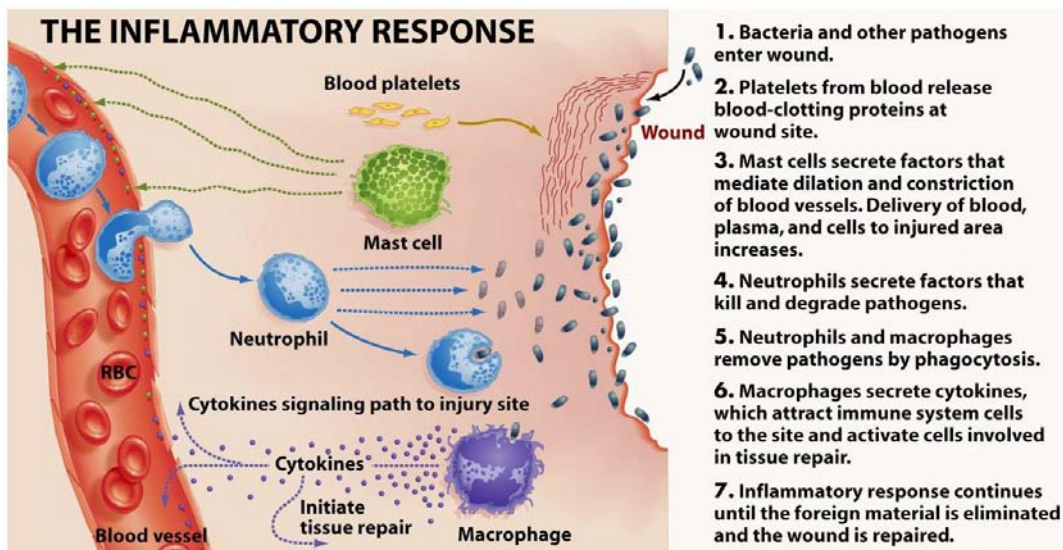


Figure 49-3 Biological Science, 2/e
© 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

Figura 3. Resposta inflamatòria. De: *Biological Science*, 2/edició. Pearson Prentice Hall, Inc. 2005. [62]

2.3. Immunitat adquirida

La immunitat adquirida o també anomenada adaptativa, s'activa en el cas que la resposta innata és insuficient. Aquesta immunitat es caracteritza per ser:

- **Específica:** depenen de l'antigen (Ag) que reconeix genera una resposta concreta.
- **Diversa:** l'organisme té una gran memòria immunològica, per tan respon a una gran varietat d'antígens (Ags).
- **Memòria:** després de la primera exposició, recorda el microorganisme i per tan amplifica la resposta en un segon contacte.
- **Expansió clonal:** produeix l'activació de la quantitat de limfòcits específics d'antígens per seguir el ritme de creixement i expansió dels microorganismes.
- **Especialització:** genera respostes òptimes en la defensa contra els diversos tipus de microbis.
- **Contenció i homeòstasi:** permet que el sistema immunitari respongui al contacte amb els Ags nous.
- **Falta de reactivitat cap al propi organisme:** evita la lesió de l'hoste (l'organisme) durant les respostes als Ags estranys.

Les principals cèl·lules dels sistema immunitari en la resposta adaptativa són els limfòcits, les cèl·lules presentadores d'antigen (CPA) i les cèl·lules efectores.

- **Limfòcits:** reconeixen els Ags estranys de forma específica i responen contra ells.
Existeixen diferents subpoblacions:

- Limfòcits B: Reconeixen els Ags extracel·lulars. S'activen modificant-se en cèl·lules plasmàtiques i fabricant Acs. Són mediadors de la immunitat humoral.
- Limfòcits T: reconeixen els Ag intracel·lulars. Però només s'activen els Ags peptídics que estan units al complex principal d'histocompatibilitat i que s'expressen sobre la superfície dels macròfags i dels limfòcits B. No s'activen amb els Ags solubles sinó als units a cèl·lules. Hi ha diferents tipus de limfòcits T segons la seva funció:
 - *Limfòcits T cooperadors*: segreguen citoquines que posen en marxa la proliferació i diferenciació dels propis limfòcits T, dels limfòcits B i dels macròfags.
 - *Limfòcits T citotòxics*: destrueixen les cèl·lules productores d'Ags estranys, com ara les infectades per virus o microorganismes intracel·lulars.
 - *Limfòcits T reguladors*: inhibeixen respostes immunitàries.
 - *Limfòcits citolítics o Natural Killer*: no participen en la immunitat adquirida, però sí a la innata.
- **Cèl·lules presentadores d'Ags (CPA)**: l'activació de la immunitat adaptativa requereix de la presentació dels Ags als limfòcits mitjançant unes cèl·lules que són les CPA. Les més especialitzades són les cèl·lules dendrítiques.
- **Cèl·lules efectores**: són el conjunt de cèl·lules que s'encarreguen de la destrucció final del microorganisme. Els limfòcits T activats són una d'aquestes cèl·lules.

La resposta adaptativa té tres estratègies principals, la primera és la secreció, per part dels limfòcits B, dels anticossos que s'uneixen als microorganismes extracel·lulars i bloquegen la capacitat per infectar les cèl·lules de l'hoste i així afavorir la seva fagocitosis i destrucció posterior pels macròfags. La segona és que els limfòcits T cooperadors s'activen i fabriquen citoquines que a la vegada activen la destrucció dels microbis (fagocitosis mitjançant macròfags, activació de limfòcits T i B) i la tercera és que els limfòcits T citotòxics destrueixen les cèl·lules infectades pels microbis i que són inaccessibles pels Acs.

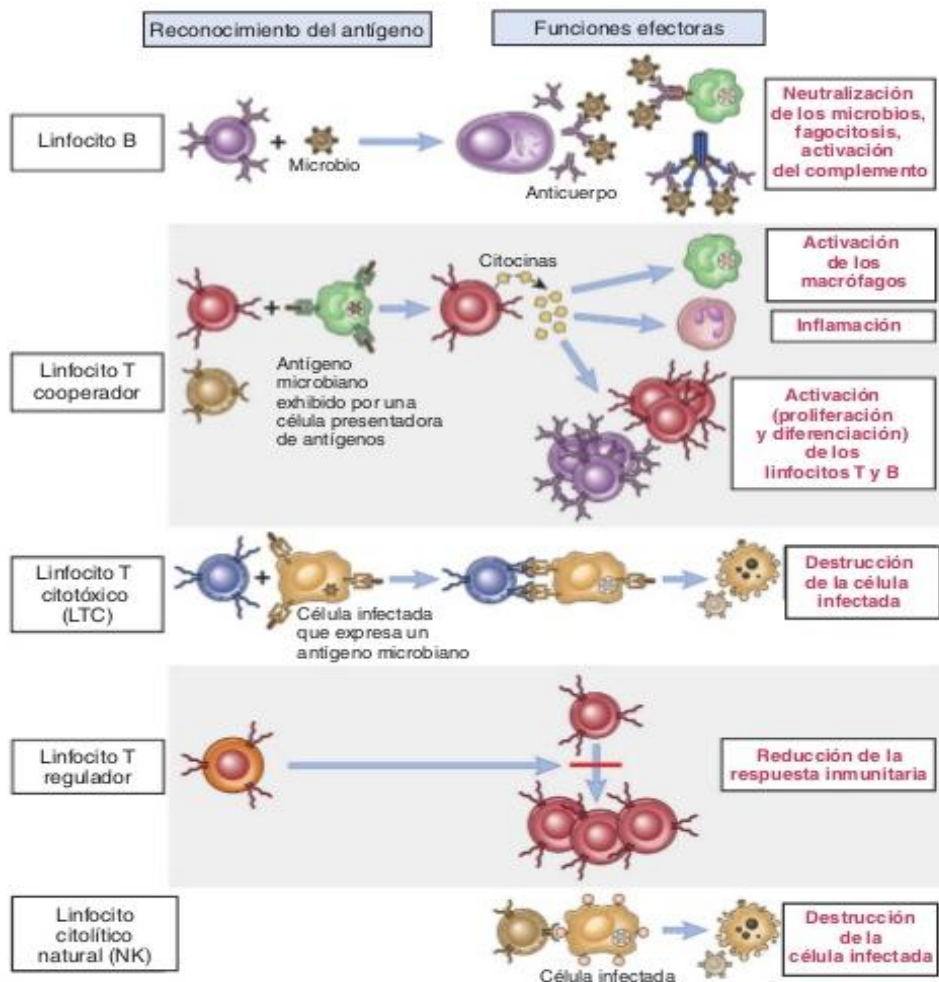


Figura 4. Cel·lules dels Sistema Immune adaptatiu. Abbas et al. *Cellular and Molecular Immunology*. [58].

2.3.1. Fases de la Resposta Immunitària Adaptativa

Els sistema immunitari adaptatiu després de rebre un estímul antigènic produeix una gran quantitat de limfòcits i selecciona les cèl·lules més eficaces per combatre els microorganisme. Això condiona que la resposta sigui molt eficaç. Aquest procés segueix diferents fases on estan implicats els limfòcits:

- **Captació i mostra dels Ags microbians.**

Les cèl·lules dendrítiques són les CPA encarregades de mostrar els pèptids microbians als limfòcits T *naive* i posar en marxa la resposta immunitària adaptativa. Si per exemple el microorganisme envaeix el tracte respiratori, aquestes CPA capten a l'epiteli els microorganismes i expressen a la seva superfície pèptids dels microorganisme invasor, units a les molècules del Complex Major d'Histocompatibilitat (CMH). Les cèl·lules dendrítiques amb els Ags es desplacen fins als ganglis limfàtics (també a altres teixits com la melsa) i és on té lloc l'expansió clonal de limfòcits.

- **Reconeixement dels Ags per part dels limfòcits**

Els Ags són reconeguts pels limfòcits T i pels limfòcits B *verges o naive* que proliferen i es diferencien (Limfòcits T i B activats) per fer diferents funcions.

- **Activació de limfòcits T i eliminació de microbis intracel·lulars (Immunitat Cel·lular)**

Els limfòcits T activats o també anomenats efectors o cooperadors tenen com a funció segregar citoquines. Entre les citoquines més importants que fabriquen tenim la

Interleuquina 2 (IL-2) que es un gran activador de l'expansió clonal i l'interferó- γ que és un activador dels macròfags. A més els limfòcits T CD4 segreguen citoquines estimuladores de la producció d'immunoglobulina E que a la vegada activen els eosinòfils, els quals eliminen els paràsits (microorganismes massa grans per ser eliminats pels macròfags). I els limfòcits T CD8 activats proliferen i es diferencien en limfòcits T citotòxics per destruir els microorganismes situats a nivell intracel·lular.

- **Activació dels limfòcits B i eliminació de microbis extracel·lulars (Immunitat Humoral)**

Els limfòcits B s'activen amb la presentació dels Ags (que són presentat pels Limfòcits T CD4). La diferenciació dels limfòcits B és cap a cèl·lula plasmàtica, que produeix Acs o Igs. Els antígens d'estructura polisacàrida i lipídica estimulen la secreció d'IgM. Els antígens proteics, produeixen IgG, IgA i IgE. La unió dels Acs evita que s'infectin les cèl·lules i així els neutralitza, evitant la infecció. L'únic mecanisme immune que evita la infecció abans que s'estableixi són els anticossos, per això la vacunació és protectora d'infeccions.

- **Memòria Immunitària**

Posteriorment a l'eliminació dels microorganismes, arriba la fase de contenció, en la que desapareixen els clons de limfòcits expandits i es recupera l'homeòstasi.

L'activació inicial dels limfòcits genera unes cèl·lules de memòria, que perduren en el temps després de la infecció. Aquestes cèl·lules són més eficaces que els limfòcits verges, i per tan en cas d'una segona infecció pel mateix microorganismes l'activació de la immunitat és més ràpida i efectiva. Aquest és el segon objectiu de la vacunació.

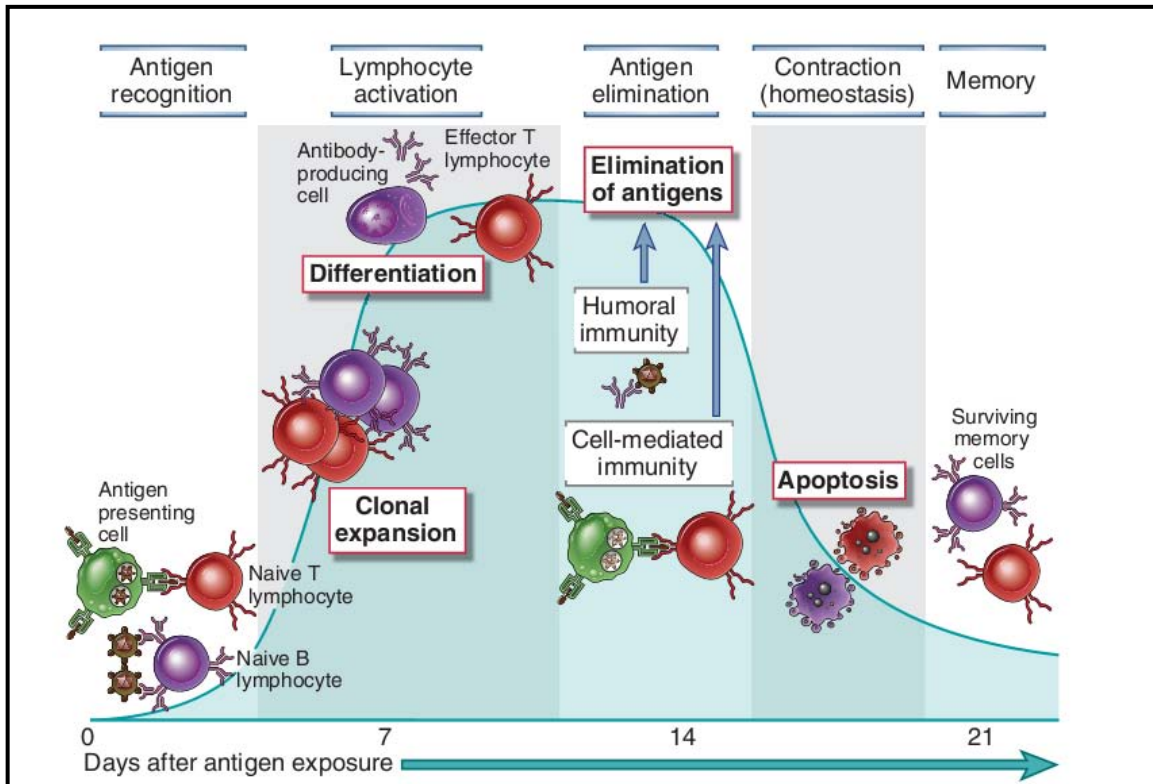


Figura 5. Fases de la Immunitat adaptativa. Abbas et al. [58].

3. LES IMMUNOGLOBULINES

Les immunoglobulines o també anomenats anticossos són proteïnes produïdes per l'organisme en resposta als Ags. Són els principals mediadors de la immunitat humoral adquirida.

Els Acs poden aparèixer units a la superfície dels limfòcits B, i actuen com a receptors pels Ags. També poden ser secretats i circular lliurement pel torrent sanguini o bé dipositar-se en els teixits i a les mucoses. Quan, en aquestes localitzacions, s'uneixen als Ags es neutralitzen les toxines o s'impedeix l'entrada i propagació dels patògens.

3.1. Referència històrica

La identificació de les Igs es remunta als segle XIX, quan en 1890 Emil Adolf von Behring i Shibasabaro Kitasato van descobrir l'activitat d'una substància en el sèrum d'animals infectats amb diftèria, i que neutralitzava la toxina diftèrica. A aquesta substància la van anomenar antitoxina i van proposar la teoria de la immunitat humoral [63]. Van demostrar que la resistència a les malalties microbianes es podia passar a través del sèrum, i van definir la immunitat passiva, com l'adquisició de resistència a patògens mitjançant la transferència d'aquesta propietat provinent d'un donant immunitzat. S'ha de dir que aquest experiment va obrir les portes a la immunologia moderna. Kitaso i Behring van parlar d'una propietat antitoxina que tenia el sèrum, i posteriorment al 1891, Guido Tizzoni i Guiseppina Cattani, dos italians especialistes en tètanus, van ser els que van encunyar el terme d'"antitoxina" [64]. En 1891 Paul Ehrlich va arribar a la conclusió que quan dues toxines diferents (rizina i abrina) s'administren a animals d'experimentació, s'originen dos *antikörper* diferents, i així va introduir el terme d'anticòs que encara avui es fa servir [65]. Al 1897, va destacar la importància d'estandarditzar les quantificacions dels Acs [66]. I a l'any 1900, va presentar davant la Royal Society de Londres la seva teoria de les cadenes laterals, postulant la hipòtesi de que existien receptors a la superfície de les cèl·lules que es podien unir a les toxines, i que aquest acoblament desencadenava la producció d'Acs [67]. En la seva teoria explicava que existia una variació en l'afinitat de la reacció Ag-Ac segons la complementarietat dels contorns moleculars, i postulava que les substàncies no reaccionaven a menys que es fixessin. Per totes les aportacions al món científic, Ehrlich va obtenir el premi Nobel de Fisiologia i

Medicina al 1908. Va ser Karl Landsteiner (premi Nobel de Fisiologia o Medicina en 1930) qui va mesurar l'especificitat de les reaccions Ag-Ac i va descobrir les funcions dels haptens, que són substàncies químiques de baix pes molecular que no indueixen per elles mateixes la formació d'Acs, però que al unir-se a una proteïna transportadora, com ara l'albumina, estimulava la resposta immunitària (*carrier effect*) [68,69].

Posteriorment, al 1904 Almroth Wright va definir el procés d'opsonització, entenent que els Ac solubles recobrien la superfície de les bacteries per identificar-les i induir la seva fagocitosis i destrucció. Inicialment, es creia que només les proteïnes i algunes glicoproteïnes eren les estructures químiques que activaven la producció d'Acs, ja que s'havia intentat amb polisacàrids sense èxit. Al 1923, Michael Heidelberger i Oswald Avery van descobrir que el polisacàrid capsular del pneumococ era un Ag amb capacitat immunogènica [70, 71]. A la següent dècada, en 1934 John R. Marrack va proposar que les forces hidròfiles (enllaços o ponts d'hidrogen) eren la causa de la unió Ag-Ac [72]. En els següents anys van haver importants avenços tecnològics (ultracentrifugació, electroforesi) que van permetre a Arne Tiselius i Elvin Kabat realitzar l'electroforesi d'un sèrum de conills immunitzat amb albumina d'ou i demostrar que l'activitat de l'Ac es trobava en el tercer pic del desplaçament electroforètic de les proteïnes, conegut com pic gamma, per això es van denominar als Acs amb el nom de gammaglobulines [73]. Quan es va saber que no totes les globines del pic gamma eren Acs es va decidir canviar la nomenclatura a immunoglobulines. En 1951 el Dr. Henry Kunkel realitza una de les majors aportacions clíniques, descobrint que l'elevació de les proteïnes en els pacients amb mieloma múltiple té relació amb les gammaglobulines normals, i que l'elevació proteica era d'un únic clon cel·lular [74]. Posteriorment es va anar investigant sobre l'estructura

química dels anticossos, els tipus i les subclasses, les seves funcions, i es van definir una sèrie de conceptes i teories que actualment són vigents en el món de la immunologia. El primer investigador que va descobrir l'existència d'al·lotips en la IgG fou Oudin, al 1956, amb l'ús d'antisèrums policlonals [75]. Durant el mateix any, Korngold i Lipari van usar conills immunitzats amb IgG normal i demostraren, mitjançant tècniques de doble difusió agar, la presència de diferències antigèniques a les proteïnes del mieloma [76]. En 1959, Edelman observa que l'estructura molecular de la IgG estava constituïda per cadenes pesades i lleugeres, i que aquestes últimes eren les mateixes que s'havien trobat a la proteïna de Bence Jones [77]. En 1962 i 1963, Fahey y Solomon [78], Mannik y Kundel [79], i Migita i Putman [80], van ampliar les investigacions de Edelman sobre les cadenes H i L de les IgG, demostrant que hi havia dos tipus de cadenes lleugeres, inicialment anomenades tipus I i II, però que més tard han quedat amb la nomenclatura de Kappa i Lambda. Per les mateixes dates, Rodney Porter va caracteritzar les regions d'unió de l'Ac, que actualment coneixem com "regió Fab", i la cua del Ac coneguda com "Fc", en la IgG. Al 1961 Korngold et al [81] van ser els primers investigadors en suggerir l'existència de les subclasses de IgG, que en anys posteriors es van definir en quatre subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4). També es va descobrir la macroglobulina IgM que estava constituïda per cinc estructures semblants a la IgG, amb una configuració en forma d'estrella. Thomas Tomasi va descobrir els anticossos secretats que era la IgA, i que es trobaven en el sèrum secretats pel tracte digestiu i les vies respiratòries [82]. Als 1965 David Rowe i John Fahey van identificar la IgD, restringida a la immunoregulació en la superfície de les cèl·lules beta [83]. I finalment la IgE, que es descriu en 1966, per Kishige Ishizaka i Teruki Ishizaka, que és un Ac implicat a les reaccions al·lèrgiques [84].

Entre els esdeveniments més significatius a nivell clínic, cal destacar la producció d'AcS monoclonals, ideada per Cesar Milstein i Georges JF Köhler en 1975 [85]. Un any més tard, es va identificar la recombinació somàtica dels gens de l'Ig per Susumo Tonegawa, i que ha donat lloc a conèixer la gran diversitat dels AcS [86].

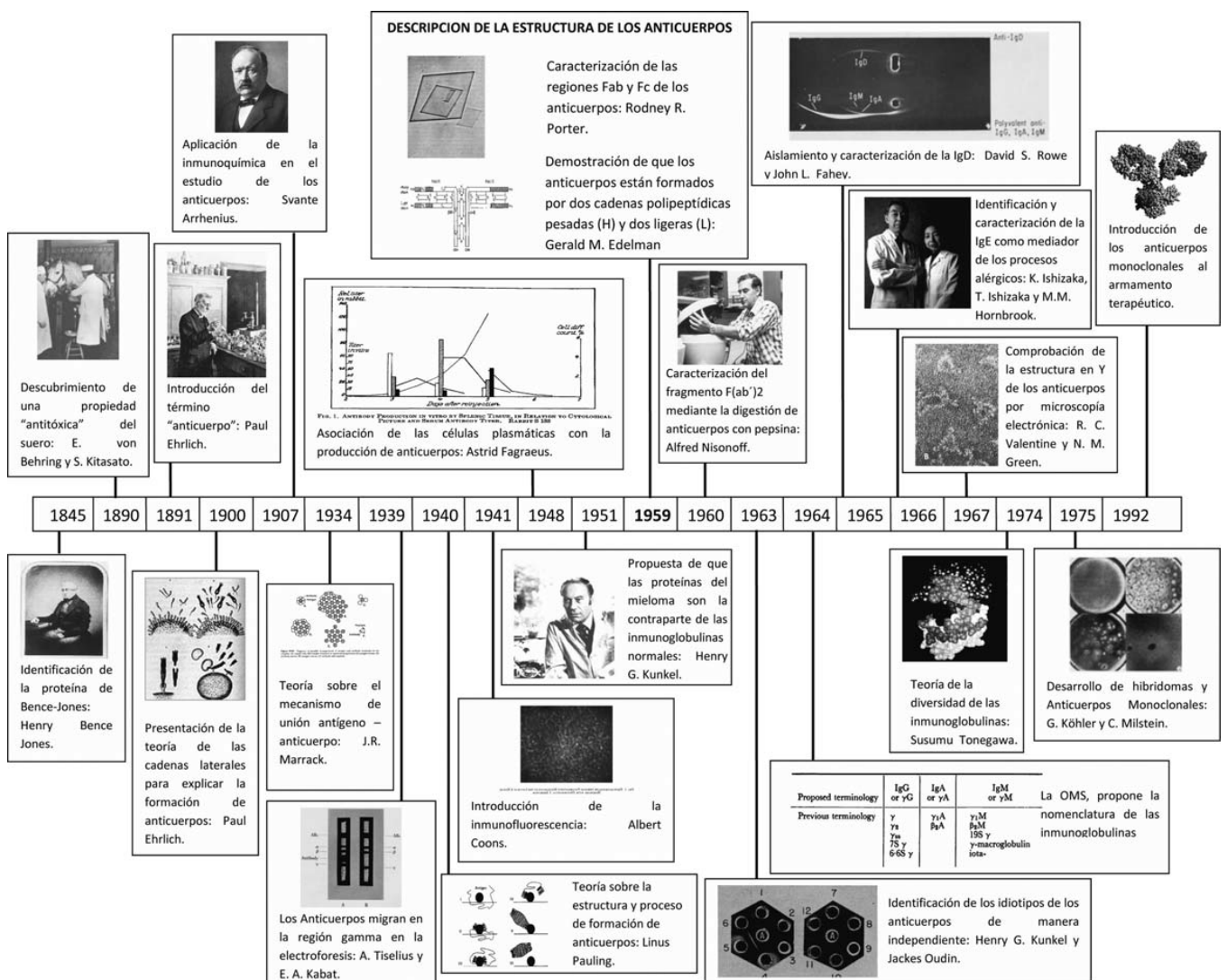


Figura 6. Història dels Anticossos. De: Reumatología Clínica [87].

3.2. Estructura de les Ig.

El coneixement de l'estructura molecular dels Acs ha permès comprendre la seva funcionalitat. De forma genèrica, totes les proteïnes solubles en sèrum es classifiquen segons la seva migració durant el procés d'electroforesi; concretament els Acs són glicoproteïnes que pertanyen a la fracció de les globulines "gamma", d'aquí que s'anomenin sovint immunoglobulines.

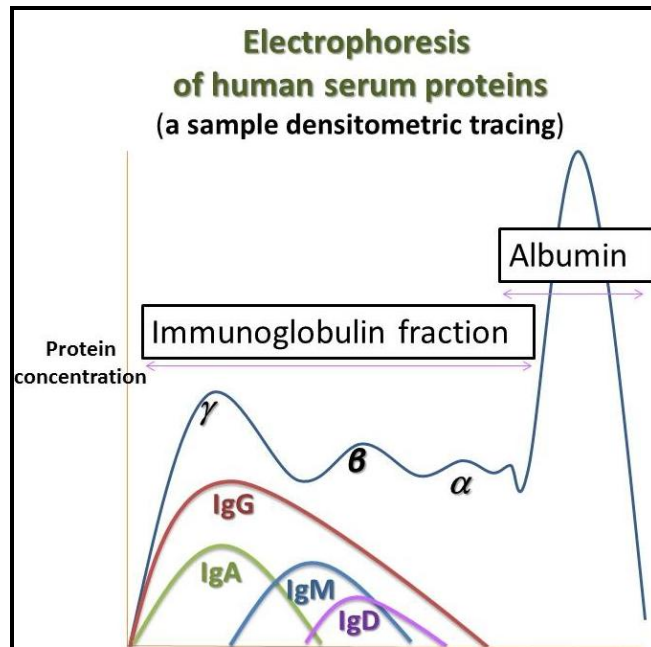


Figura 7. Immunoglobulines per electroforesi.

Totes les Igs tenen una estructura comú, formada per quatre cadenes polipeptídiques, dues de major mida (440 aminoàcids cada una) i que s'anomenen cadenes pesades (CH) i dues menors (220 aminoàcids cada una), que es diuen cadenes lleugeres (CL), totes elles unides per ponts disulfur, amb una forma característica de "Y". Aquestes unitats bàsiques poden ser monomèriques o bé unir-se entre si, formant dímers, tetramèrics o pentàmers.

Existeixen dos tipus de cadenes lleugeres, les tipus Kappa (κ) i les tipus lambda (λ). Les dues CL d'una Ig són del mateix tipus, o κ o λ , no es coneixen molècules híbrides.

Respecte a les cadenes pesades, existeixen 5 tipus: alfa (α), delta (δ), epsilon (ϵ), gamma (γ) i mu (μ). El tipus de cadena pesada definirà la classe o "isotip" de l'Ac (IgA, IgD, IgE, IgG i IgM). Les cadenes pesades tenen una zona de 15 aminoàcids (aa) molt flexible que es coneix com "regió frontissa" (bisagra o *hinge region*) que es la zona per on es deforma la molècula quan es produeix la unió amb l'Ag [88].

Tant les cadenes pesades com les lleugeres tenen una sèrie d'unitats d'aa que es repeteixen (uns 110aa) i que es repleguen formant una estructura globular, que es denominen *domini Ig*. Aquests dominis tenen entre 70-100 aa i es classifiquen en dominis *constants* o *variables*.

Les regions variables amino terminals (V), tant de les cadenes pesades com lleugeres participen en el reconeixement de l'Ag. Aquests dominis estan situats als extrems de la "Y" dels Acs, aquesta regió es coneix com *Fragment d'unió a l'Ag* o *regió Fab*. Les regions constants carboxi terminals (C) de les cadenes pesades, formen el cos de la "Y", i es coneixen com *Fragment cristal·litzable* o *regió Fc*, sent les mediadores de les funcions efectores (interactuen amb molècules, cèl·lules del sistema immunitari, el complement...), a més la Fc és la zona d'ancoratge a la membrana dels limfòcits B.

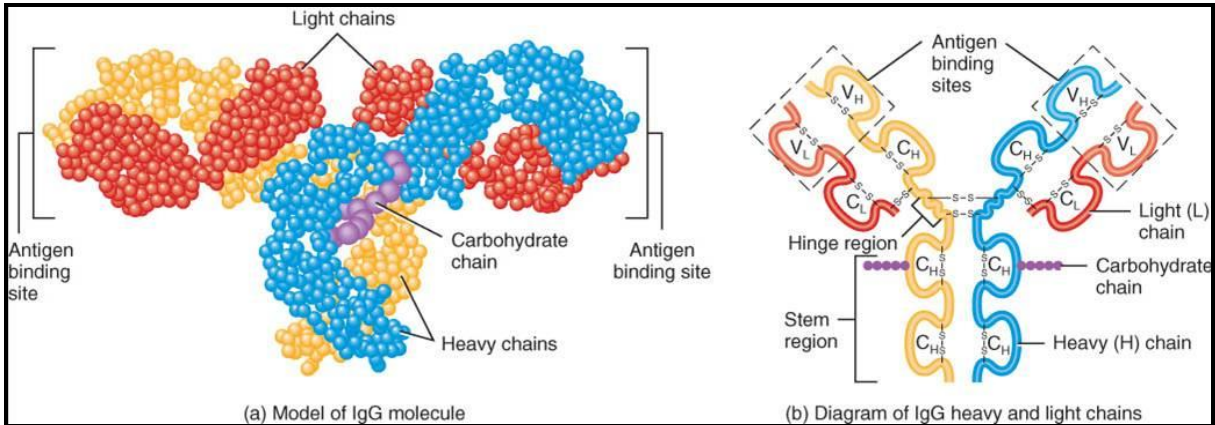


Figura 8. Unitat estructural bàsica de les Igs: model espacial i diagrama.

Les zones variables, ja siguin de la cadena lleugeres com de les pesades, tenen unes regions on es concentra la seva variabilitat, i que es coneixen com regions determinants de complementarietat (CDR- *Complementary Determining Region*), ja que determinen la forma del centre actiu que permet el reconeixement i unió a l'Ag. Cada CDR està format per uns 17-20aa i petits canvis en els aa d'aquesta zona suposa una amplitud de possibilitats per unir-se a l'Ag. La resta de la zona variable, està formada per un grup d'aa relativament constant que dona suport a la regió hipervariable, però que no fa cap funció específica i que s'anomena residu FW (*framework*).

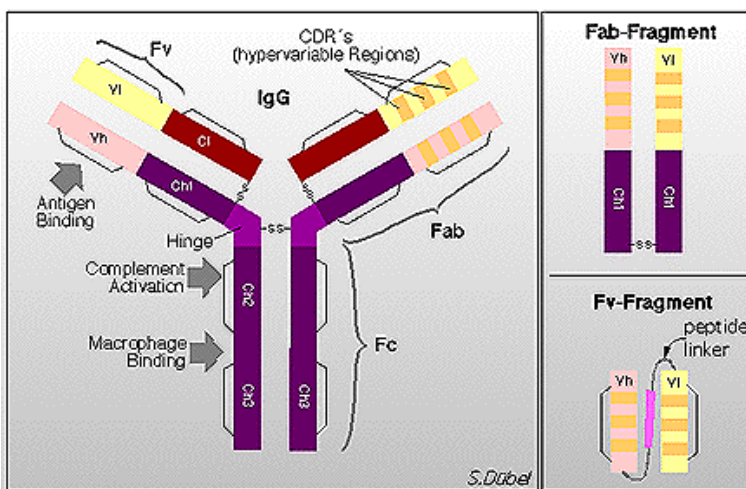


Figura 9. Regions hipervariables (CDR).

A les Igs, a més de les quatre cadenes polipeptídiques bàsiques, hi ha un component glucídic (que suposa el 2-4% del pes molecular) i que es coneix com cadena J i peça de secreció. La cadena J, és una glicoproteïna amb un pes molecular de 15kD i que s'uneix per ponts disulfur als extrems Fc en la IgA i la IgM. La peça de secreció és una glicoproteïna de 58kD de pes molecular que sintetitzen les cèl·lules epitelials de les mucoses i les glàndules exocrines.

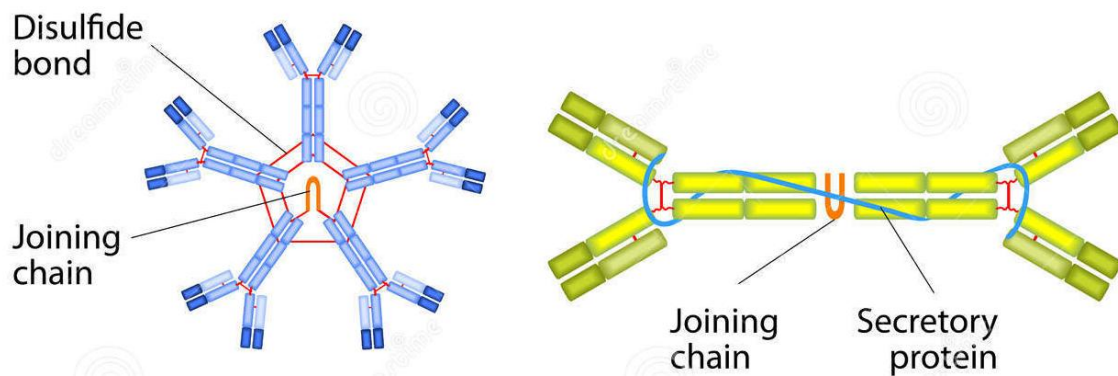


Figura 10. Cadena J i Proteïna secretora.

3.3. Tipus d'immunoglobulines

Les Igs poden presentar-se com a diferents varietats, conegudes amb el nom de classes o isotips. Els mamífers disposem de 5 isotips denominats com : IgA, IgD, IgE, IgG i IgM. Cadascuna d'elles presenta una estructura molecular característica que determina unes funcions específiques; les IgG, IgD i IgE són monomèriques, la IgA és un dímer i la IgM és pentamèrica.

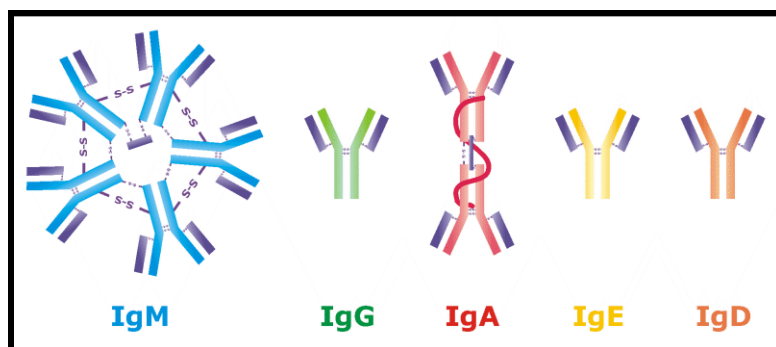


Figura 11. Estructura de les Igs humanes.

Dintre de les classes de Igs es poden establir subclasses, que venen definides per la seqüència d'aa de la regió constant de les cadenes pesades i per la disposició dels punts disulfur. Així que la IgG humana es divideix en 4 subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 i IgG4) i la IgA i la IgM en dues (IgA1, IgA2 i IgM1, IgM2).

A més existeixen diferències entre les Igs d'un individu i d'un altre de la mateixa espècie. Aquestes diferències situades a la regió constant de les cadenes lleugeres i pesades, es denominen al·lotips. En humans s'han descrit tres tipus d'al·lotips: *Gm* a les cadenes gamma de les IgG, *Am* a les cadenes alfa de les IgA i *Km* a les cadenes lleugeres.

3.4. Funcions generals de les Igs

Els Acs són produïts pels limfòcits B i les cèl·lules plasmàtiques en els òrgans limfàtics i a la medul·la òssia, però realitzen les seves funcions efectores en zones allunyades de la seva síntesi. La fase efectora de la immunitat humoral és sistèmica, els Acs es transporten activament a través de les barreres epitelials cap a les llums dels òrgans mucosos (intestí, vies respiratòries...) inhibint l'entrada de microorganismes, i entren a les secrecions per

actuar contra els patògens. També es transporten activament a través de la placenta cap a la circulació fetal.

Genèricament les Ig tenen tres funcions principals:

- **Neutralització:** impedeixen que els patògens entrin a les cèl·lules o les lesionin amb la seva unió.
- **Opsonització:** estimulen l'eliminació d'un patogen pels macròfags i altres cèl·lules, revestint la seva superfície.
- **Lisis:** desencadena la destrucció directa del patogen estimulants altres respostes immunes com la via del complement.

3.4.1. Neutralització de microorganismes i toxines microbianes.

Els Acs contra els microorganismes i les toxines bloquegen la seva unió als receptors cel·lulars. Molts microorganismes entren a la cèl·lula hoste mitjançant la unió a determinades molècules de superfície i a proteïnes de membrana. Llavors els Acs s'uneixen a proteïnes de la membrana microbiana per interferir en la interacció d'aquests amb les cèl·lules de l'organisme, evitant la infecció pel mecanisme de l'esterificació. A vegades, els Acs amb la seva unió al patogen produeixen un canvi en la morfologia de les proteïnes de membrana del microorganisme que impedeix la interacció amb la cèl·lula hoste (mecanisme al·lostèric). També hi ha Ac antitoxina que pel mecanisme d'esterificació obstaculitzen les interaccions de les toxines amb les cèl·lules, evitant que les toxines provoquin dany tissular i infermetat sobre l'hoste.

La funció de neutralització pot ser realitzada per tots els isotips dels Ac en circulació sanguínia i a les secrecions mucoses. La regió de l'Ac que s'activa és la regió Fab. De forma

majoritària, la IgG és l'Ac que amb més freqüència neutralitza en el corrent circulatori i la IgA als òrgans mucosos.

L'afinitat dels Acs sobre els Ags dels patògens ve modulada per un procés conegut com *maduració de l'afinitat*, essent els Acs més efectius aquells d'afinitats altes. Això ha permès a la pràctica clínica, crear vacunes que estimulen la producció d'Ac d'alta afinitat que neutralitzen l'entrada de virus, evitant la infecció. D'altra banda, alguns microorganismes ja tenen la capacitat de mutar els Ags de la seva superfície per evitar l'efectivitat dels Acs, com passa a les pandèmies de grip.

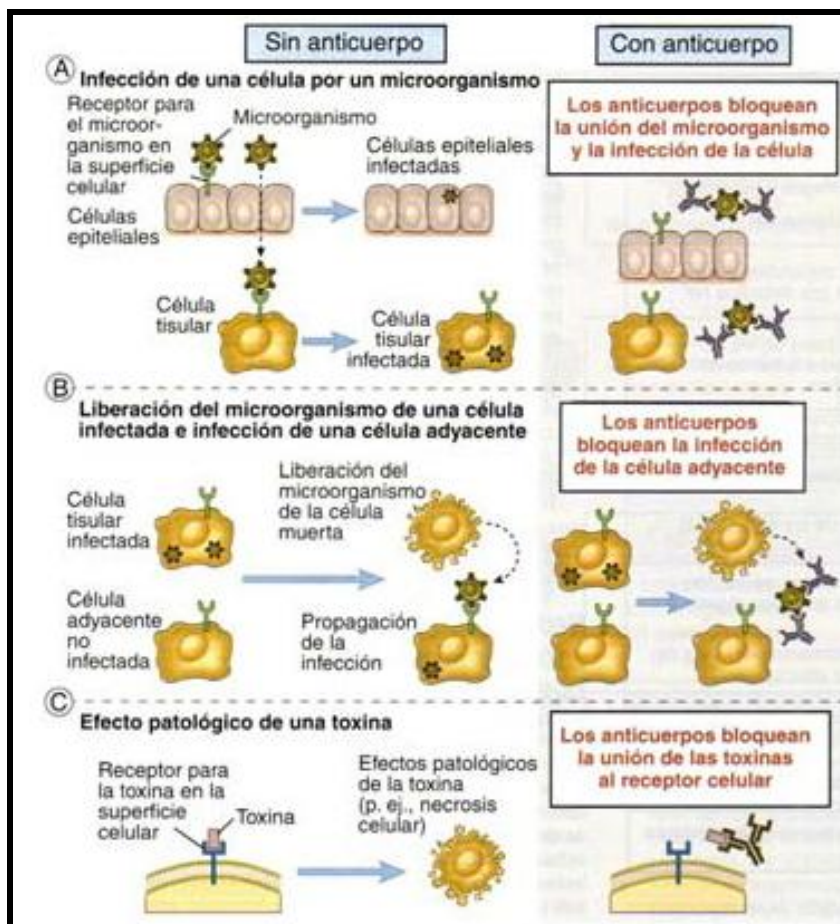


Figura 12. Neutralització dels microorganismes i toxines mitjançant els Acs. Abbas [58].

3.4.2. Opsonització i fagocitosis

Els Acs de l'isotip IgG recobreixen als microorganismes i s'uneixen als *receptors Fc* dels fagòcits (mononuclears i neutròfils) que estimulen la fagocitosis. El procés de recobrir a les partícules per permetre la seva fagocitosis es coneix com opsonització i les substàncies que realitzen aquesta funció, com són els Acs i també proteïnes del complement, es diuen *opsonines específiques*. Les opsonines més eficaces per estimular la fagocitosis són la IgG1 i IgG3.

Els receptors Fc més importants per la fagocitosis de les partícules opsonitzades són els receptors per les cadenes dels Acs IgG, que s'anomenen **Fc γ** . Hi ha tres tipus de Fc γ : Fc γ RI (o CD64), Fc γ RII (o CD32), i Fc γ RIII (o CD16). Sobretot el receptor tipus I (Fc γ RI) té una gran afinitat per la IgG1 i IgG3.

Per una banda, la fixació seqüencial dels receptors de Fc a les partícules recobertes d'Acs desencadena la seva ingestió i interiorització en vesícules fagocítiques. Aquests fagosomes es fusionen amb lisosomes i les partícules fagocitades es destrueixen en els fagolisosomes. D'altra banda, la unió del Fc γ RI amb IgG activa la família de les quinases, que activa una cadena d'actuacions (producció de toxines com reactius de l'oxigen, enzim oxidasa) per tal de destruir o catalitzar aquells microorganismes extracel·lulars que són massa grans per ser fagocitats, amb l'inconvenient que a vegades aquesta reacció "química" danya els teixits (lesions d'hipersensibilitat per Ac: anèmia perniciosa, Síndrome Goodpasture, anèmia hemolítica autoimmune, Pènfigo vulgar...).

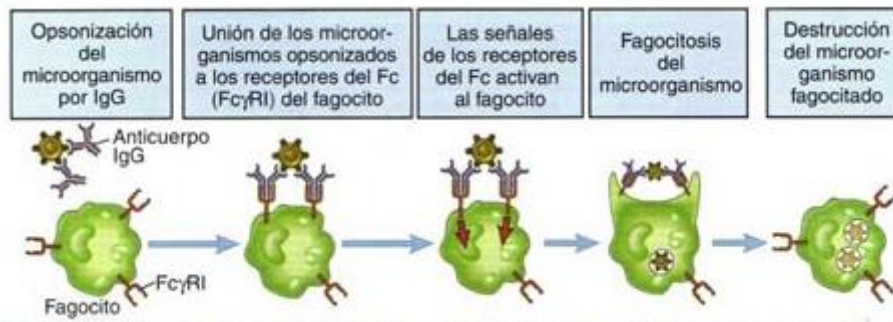


Figura 13. Oponització i fagocitosis de microorganismes mitjançant l'activació dels Acs. Abbas [58].

3.4.3. Citotoxicitat cel·lular

Els receptors Fc a més d'estar a la membrana dels fagòcits mononuclears (macròfags) o neutròfils també els podem trobar a d'altres cèl·lules com les plaquetes, els limfòcits B i les Natural Killer. Quan es produeix la unió amb les Natural Killer (NK) s'activen i lisen a les cèl·lules portadores de l'Ag per un mecanisme que es coneix com a citotoxicitat cel·lular dependent d'Acs (ADCC). La ADCC només passa si la NK està recoberta d'Acs, no té lloc si els Acs o Igs estan lliures pel torrent plasmàtic.

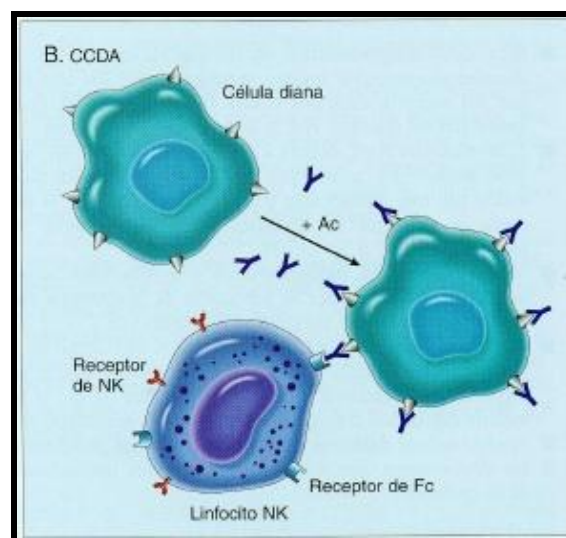


Figura 14. Citotoxicitat cel·lular dependent d'anticòs.

3.4.4. Activació del complement

Quan les Igs que s'uneixen als Ag són de la classe IgM o IgG, en els seus extrems Fc es produeixen alguns canvis al·lostèrics que permeten l'adhesió i activació d'alguns components del complement. Les fraccions actives del complement tenen varies funcions: lisis i fagocitosis dels microorganismes opsonitzats i generar inflamació. A aquest fenomen se li coneix amb el nom de citotoxicitat mediada pel complement.

El sistema del complement consta d'unes proteïnes sèriques i de superfície cel·lular que interactuen entre elles i amb altres molècules del sistema immune, de forma coordinada i regulada. L'activació del complement suposa l'activació d'una cascada enzimàtica que genera la proteòlisi seqüencial de proteïnes que a la vegada genera enzims que multipliquen l'activitat proteolítica.

Les Igs, només quan estan lligades als Ags, activen la via clàssica del complement, mitjançant la unió de la proteïna C1 del complement amb el domini CH2 de la IgG i el domini CH3 de les IgM.

La proteïna C1 del complement és un complex proteínic gran format per subunitats (C1q, C1r, C1s, C1qr2s2). La porció C1q, d'estructura hexamèrica, té la funció de reconèixer la molècula i unir-se específicament a les regions Fc de les cadenes pesades μ (IgM) i algunes gamma (IgG1 i IgG3). Cada C1q pot unir-se a dos cadenes pesades d'Ig per activar-se. En el cas de les cadenes gamma, cada C1q pot unir-se a dos IgG (IgG3 o IgG1). En canvi, donat que la IgM és d'estructura pentamèrica, aquesta pot unir-se a dos porcions C1q, essent la Ig més eficient respecte a l'activació del complement.

Una vegada activada la C1q del complement mitjançant les Ig, hi ha tota una sèrie de reaccions d'interaccions proteiques que finalitzen en la formació del complex d'atac a la membrana (CAM) capaç de destruir les cèl·lules.

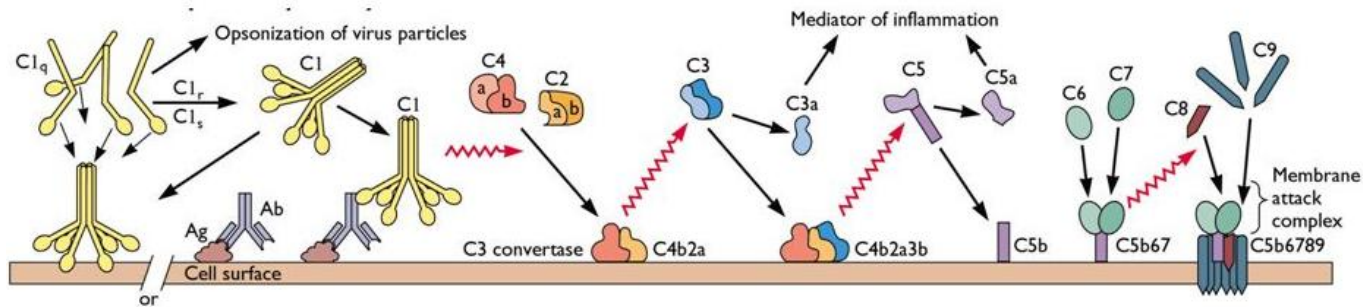


Figura 15. Activació del complement (via clàssica) mitjançant anticossos.

3.5. Funcions específiques per anticossos.

3.5.1. Funcions de la IgA

La IgA és la Ig de les mucoses. La seva cadena pesada és Alpha. Té tres dominis constants a la cadena H. Es tracta d'un monòmer, quan està en el sèrum i d'un dímer si està a les secrecions o mucoses (tot i que també pot configurar-se com un trímer o tetràmer), s'associa a una cadena J i una cadena secretora. Hi ha dues subclasses d'IgA, la IgA1 i la IgA2, que es diferencien sobretot en la regió frontissa (*hinge region* o *bisagra*). A la IgA1 la regió frontissa és més llarga amb una duplicació elongada d'aminoàcids que no té la IgA2. Aquesta elongació de la regió frontissa augmenta la sensibilitat de la IgA1 per les proteases de les bacteries. Això explicaria, el per què el 90% de la IgA que hi ha al sèrum és IgA1 i en canvi a les secrecions mucoses, com ara el tracte genital, predomina la IgA2 [88].

Els seus nivells a les mucoses i a les secrecions, incloent secrecions bronquials, llàgrimes, líquid cefaloraquídi, llet i saliva són molt més elevats que els de la IgG[89]. De fet, de les proteïnes del calostre (primera llet materna) la proporció de IgA és de més d'un 50%. Els nivells de IgA en sèrum són inferiors a la IgG però superiors a la IgM. La mitja de concentració en sèrum es de 0.8-0.4mg/ml amb una vida mitja de 6-7 dies. No travessa la placenta.

La IgA té la capacitat de protegir la superfície de les mucoses dels virus (poliomielitis, influenza), toxines i bacteries (*salmonella*, *Vibrio cholerae*...) mitjançant la neutralització i precipitació principalment, inhibint l'adhesió d'aquest patògens o toxines a l'epiteli. El poder opsonitzador és lleu, només actuant sobre els neutròfils i no sobre macròfags, i fent reacció local. La seva propietat principal és la d'unir-se per l'extrem Fc a la peça secretora, i per tant es secreta per les mucoses i glàndules exocrines. La seva acció polimèrica és més efectiva que la monomèrica, com es pot veure en la infecció per toxina A del *Clostridium difficile*, on protegeix més del dany epitelial si es troba com a dímer [90]. També s'ha vist que la IgA en sèrum pot ser un potenciador de la resposta immune en el teixit intestinal, mitjançant la retenció dels Ags per les cèl·lules dendrítiques [91]. La IgA no activa el complement.

Hi ha estudis que mostren un nivells de IgA en sèrum més elevats durant l'estació d'hivern, probablement perquè hi ha més infeccions respiratòries i més estimulació immune a nivell de la mucosa. S'ha vist que els pacients amb consum d'alcohol (>40 unitats/setmana) tenen unes concentracions d'IgA major del 12% respecte als pacient no consumidors d'alcohol [92,93]. I també hi ha variacions de les concentracions d'IgA en funció de l'edat i el sexe [93,94].

3.5.2. Funcions de la IgG

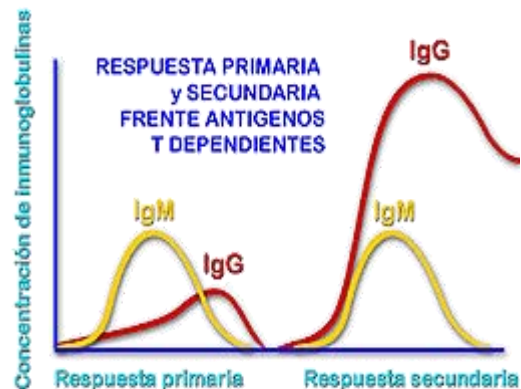
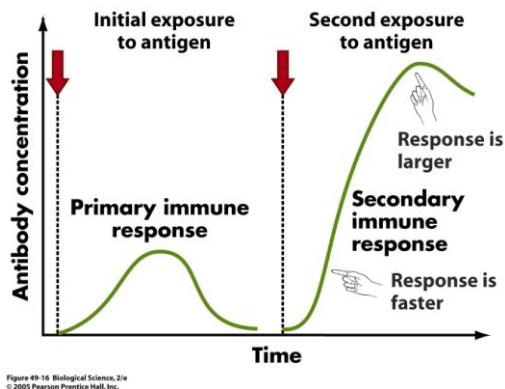
La IgG és la Ig més abundant, i la més estudiada. Suposa el 70% de les Igs sèriques totals, entre 7-18mg/dL. La seva cadena pesada és la Gamma. La vida mitja en sèrum és de 21 dies, essent l'isotip d'Ig amb vida mitja més llarga.

La IgG és multifactorial, la regió Fab determina l'especificitat de la unió amb l'Ag i la regió Fc determina les funcions efectores. Hi ha quatre subclasses de IgG diferents: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Les seves subclasses es representen en diferents proporcions, la més freqüent és la IgG1 (més del 60%), seguida de la IgG2 (18%) i la IgG3 i IgG4 menys abundants.

Les funcions principals de la IgG són les de neutralitzar, precipitar, fixar el complement, opsonitzar (unir-se a les cèl·lules Natural Killer i a macròfags) i travessa activament les membranes biològiques, inclòs la placenta. La capacitat de travessar la membrana placentària confereix protecció immunitària fetal, ja que el fetus només sintetitza petites quantitats d'Ig, i també durant la lactància.

La IgG4 és la única subclasse que no es fixa al complement, en canvi de la C1q del complement s'uneix de forma àvida amb la CH2 amb la resta dels subtipus d'IgG, essent IgG3>IgG1>IgG2. També hi ha diferències en l'afinitat de les tres classes de Fc γ (I, II i III); la IgG1 i la IgG3 s'uneixen a les tres classes de receptors Fc γ , essent aquest subtipus els més efectius per l'opsonització. En canvi la IgG4 només s'uneix al Fc γ RII i III i la IgG2 només al Fc γ RII.

La IgG es sintetitza de forma tardana després d'un primer contacte amb l'Ag, però si existeix un segon contacte la majoria d'Igs formades són d'aquesta classe, és lo que coneixem com resposta secundària [Figures 16 i 17].



Figures 16-17. Resposta Immunitària primària i secundària.

A la resposta secundària, hi ha un predomini de subclasses d'IgG segons l'agent inductor. Per exemple, la IgG1 i la IgG3 son induïts en resposta a Ag proteics, en canvi la IgG4 i la IgG2 són associats a Ag polisacàrids (ex. Polisacàrids de la càpsula de *Streptococcus pneumoniae*). Aquesta informació és de gran valor a l'hora de dissenyar les vacunes.

Les diferents subclasses també s'activen en funció de determinades malalties, per exemple en el *pénfigus vulgaris* la reacció ve donada per la IgG4 i la desmogleïna 3, mentre que la unió d'aquesta proteïna amb la IgG1 no desencadena la malaltia [95].

La IgG contribueix directament a la resposta immune neutralitzant toxines i virus. En aquesta funció la IgG1 és la que té major impacte, en resultats d'interacció, tot i que en el cas concret del virus de la immunodeficiència humana (HIV) és la IgG3 la més efectiva per la neutralització del virus [96,97].

Donat que la IgG és la Ig més activa en la resposta immunitària i que més patologia condiona, és important conèixer els nivells i rangs de referència tant de la IgG total com les subclasses, així com els factors que condicionen variabilitat en la seva distribució. Hi

ha molts estudis que miren la distribució dels subtipus d'Igs, i tots coincideixen en que la proporció és decreixent: IgG1>IgG2>IgG3 >IgG4, però hi ha diferències entre els nivells ja sigui per la tècnica d'anàlisi utilitzada o per les característiques diferents de les poblacions d'estudi.

Les concentracions sèriques baixes de IgG o algunes subclasses s'han associat a infeccions recurrents, però també s'han trobat a persones sanes [98]. Hi ha situacions i factors que poden influir com ara els factors genètics, el sexe, els hàbits tòxics com l'alcohol i el tabac o el dejú. De forma general podem concloure que hi ha un descens de IgG en els consumidors d'alcohol i tabac [92, 93], així com en el dejú [99]. En canvi hi ha estudis que mostren un augment dels nivells de la IgG amb l'edat [93], així com augment de IgG2 i IgG3 més elevats a les dones [100,101] i de IgG4 als homes [102].

3.5.3. Funcions de la IgM

La IgM representa entre un 5-10% de les Ig sèriques totals. És la primera Ig expressada durant l'activació dels limfòcits B (resposta primària, *figures 16-17*) i no es re-estimula amb la resposta secundària [103]. La mitja de concentració a sèrum es de 0.4-2.5mg/mL amb una vida mitja es de 5-7 dies. La cadena pesada és la Mu.

La IgM es pot trobar en forma monomèrica, que s'expressa per les cèl·lules B *naïve* a la seva superfície i s'associa amb CD79a i CD79b (cadenes polipeptídiques que participen en la senyalització de les cèl·lules), o bé en forma pentamèrica (i rarament hexamèrica). L'estructura pentamèrica es produeix quan hi ha una estimulació antigènica i maduració dels limfòcits B.

Mentre que la IgM monomèrica té baixa afinitat per immaduresa, l'estructura pentamèrica és altament afí als Ags, essent més poli-reactius que altres isotips d'Ig, i molt més ràpids a la resposta immune.

Les funcions principals de la IgM són les de neutralitzar, precipitar, aglutinar, fixar el complement i activar la resposta immunitària primària, però no travessa les membranes biològiques, no travessa la placenta, però en canvi és la primera Ig que es sintetitza pel fetus. Es localitza, normalment, en els espais intravasculars.

S'ha reportat per diferents estudis, que existeix variabilitat de les concentracions de IgM en funció del sexe, essent més elevada a les dones [104-106]. El consum de tabac i alcohol, així com el dejú disminueixen els nivells sèrics d'IgM [92,93,99].

3.5.4. Funcions de la IgD

La IgD té una concentració sèrica $<0.03\text{mg/ml}$, amb una vida mitja de dos dies. Es localitza, junt amb la IgM, a la superfície de la membrana dels limfòcits B, i per tant se li atribueixen funcions relacionades amb l'activació d'aquests. La cadena pesada és la Delta. La seva estructura és monomèrica.

La funció de la IgD no està clara, i no es coneix la seva participació en els mecanismes principals de la immunitat. La IgD circulant pot reaccionar amb proteïnes específiques d'algunes bacteries, com ara una proteïna de la *Moraxella catarrhalis* [107]. La unió a aquestes proteïnes bacterianes estimula i activa a les cèl·lules B. No activa el complement ni travessa la placenta.

3.5.5. Funcions de la IgE

La IgE es troba en baixes quantitats en el sèrum de les persones sanes, amb una mitja de concentració sèrica de $<0.0005\text{mg/mL}$, amb una vida mitja curta de 2 dies en sèrum i més llarga unida a superfícies. Tot i la seva baixa concentració en sèrum té una gran potència, ja que és la Ig medidora de les reaccions d'hipersensibilitat immediata (al·lèrgies) i la resposta inflamatòria a les infeccions per paràsits. La seva cadena és la Epsilon.

La IgE s'uneix als receptors Fc dels mastòcits i basòfils, actuant de *trigger* per la reacció al·lèrgica d'alliberació d'histamina i d'altres mediadors inflamatoris (FNT- α , protaglandines, leucotriens, factor activador de plaquetes, IL4, IL13 i perpetuació de la resposta TH2). No té capacitat per travessar la barrera placentària.

Taula 7. Funcions i distribucions de les Igs. [108]

Functional activity	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Neutralization	+	-	++	++	++	++	++	-
Opsonization	+	-	+++	*	++	+	+	-
Sensitization for killing by NK cells	-	-	++	-	++	-	-	-
Sensitization of mast cells	-	-	+	-	+	-	-	+++
Activates complement system	+++	-	++	+	+++	-	+	-
Distribution	IgM	IgD	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgE
Transport across epithelium	+	-	-	-	-	-	+++ (dimer)	-
Transport across placenta	-	-	+++	+	++	+/-	-	-
Diffusion into extravascular sites	+/-	-	+++	+++	+++	+++	++ (monomer)	+
Mean serum level (mg ml^{-1})	1.5	0.04	9	3	1	0.5	2.1	3×10^{-5}

Figure 9-19 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

3.6. Immunodeficiències Humorals

El sistema immunitari és el mecanisme del que disposem per mantenir la integritat davant del contacte amb agents infecciosos. Una alteració en aquest sistema condiciona un augment en la prevalença d'infeccions. Hi ha moltes raons d'immunodepressió, algunes congènites que coneixem com immunodeficiències (Ids) primàries i d'altres adquirides o secundàries. A més depenent del component immunitari deficitari parlarem d'una immunodeficiència (Id) humoral, quan el dèficit be donat per l'alteració en la quantitat o funció de les Igs o de les cèl·lules productores d'Igs (limfòcits B) i la Id cel·lular quan són les cèl·lules o components formes dels sistema immune els deficitaris.

Donat l'objectiu d'aquesta tesi, ens centrarem en la descripció de les principals Ids humorals. La *taula 8* mostra el llistat de les principals immunodeficiències humorals, assumint que hi ha omisió d'algunes entitats menys freqüents i de poc impacte per entendre el present treball.

Taula 8. *Immunodeficiències primàries i secundàries humorals [109]*

Immunodeficiència primària
<ul style="list-style-type: none">• XLA: Agammaglobulinèmia lligada a cromosoma X• Immunodeficiència comú variable• Dèficit selectiu d'IgA• Hipogammaglobulinèmia transitòria de la infància• Síndrome de Hiper-IgM• Dèficit de subclasses de IgG• Deficiència de IgA + deficiència de IgG• Deficiència d'Ac específics• Hipogammaglobulinèmia transitòria del lactant

Immunodeficiència Secundària

- Dèficit selectiu d'IgM
- Aferesis IgG o teràpia d'immunoabsorció
- Leucèmia limfàtica crònica
- Síndrome nefròtic
- Hipoimmunoglobulinèmia induïda per fàrmacs
 - AINEs (ibuprofè, AAS, fenoclofenac)
 - Anticonvulsions/ansiolítics (carbamazepina, àcid valpròic, fenitoina, oxcarbazepina, clorpromacina)
 - Antireumàtics (sulfasalacina, or, D-penicilamines, ciclosporina A).
 - Corticoides sistèmics (prednisolona)
 - Teràpies biològiques (rituximab, alemtuzumab)
 - Altres (cloroquina, captopril, tiroxina, teràpia de reemplaçament androgènic).
- Sepsis
- Infeccions víriques (HIV, Epstein-Barr, rubeola, CMV)
- Grans cremats
- Enteropatia perdedora de proteïnes
- Limfangiectàsia intestinal
- Estat de malnutrició

3.6.1. Dèficit selectiu d'IgA (SIgAD)

És la forma més freqüent d'Id primària amb una estimació d'incidència entre 1:333 a 1:700 en caucàsics, ja que es veuen més afectats que els asiàtics o els afroamericans [110]. El SIgAD es defineix com a una concentració en sèrum <5mg/dL amb uns nivells d'IgG i IgM normal i una funcionalitat de les cèl·lules T normal.

La IgA, en la seva forma dimèrica, es troba a les mucoses i secrecions del tracte respiratori i digestiu, fent un efecte de barrera protectora. El seu dèficit pot no comportar clínica pel pacient, donat que es compensa per altres Igs, entre un 65-80% dels casos no es diagnostica per ser pauci-assimptomàtica. D'altra banda, en el cas simptomàtic es produeixen infeccions recurrents dels tracte respiratori superior i inferior així com

infeccions gastrointestinals (per *Giardia*), predisposició augmentada a infeccions autoimmunes i reaccions anafilàctiques [110-112].

A vegades (20% dels casos) el dèficit d'IgA, s'associa a dèficit d'alguna subclasse d'IgG (sobretot de la IgG2 o bé IgG4 o IgG4/IgG2), i els pacients amb aquestes anomalies presenten un augment en el nombre d'infeccions respiratòries i aèries (sinusitis, otitis, laringitis, traqueobronquitis...) per gèrmens capsulats com ara el *Streptococcus pneumoniae* i l'*Haemophilus influenzae* [113], però no són freqüents les bronquiectasis.

Sembla que la patogènia dels SigAD és comuna a la de la immunodeficiència comú variable (CVID), i un 20% poden derivar a la CVID.

3.6.2. Agammaglobulinèmia lligada a X o malaltia de Bruton (XLA)

Va ser la primera Id primària que es va descriure . Aproximadament el 85% dels afectats són homes i la seva incidència és de 1:250.000 als EEUU [114]. Segons el registre Espanyol (REDIP) hi ha registrat 64 casos de XLA a Espanya (4.1% de les immunodeficiències primàries)[115].

La XLA es el resultat de la mutació d'un gen encarregat de la maduració dels limfòcits B. Aquesta mutació comporta la falta completa de les Igs amb pràcticament absència de limfòcits B a sang perifèrica (<1%). Els teixits limfàtics disminueixen en grandària i els pacients tenen més risc de leucèmia i limfoma, però no presenten desordres autoimmunes [113]. La simptomatologia apareix durant el primer any de vida en el >50% dels casos, i als 5 anys el 90% dels casos. Les infeccions són amb freqüència sinopulmonars, causades per bacteries capsulades (*Haemophilus influenzae*, *S.*

Pneumoniae, Streptococcus pyogenes i Staphylococcus aureus) [110,113], i són freqüents l'aparició de bronquiectasis.

3.6.3. Immunodeficiència comú variable (CVID)

Es coneix també com hipogammaglobulinèmia adquirida. És la forma més freqüent de panhipogammaglobulinèmia, però no suposa un dèficit tan profund com la XLA, per això pot passar desapercebuda a la infància i es diagnostica a la joventut. Afecta igual a homes i dones i la prevalença es de 1:3400 als EEUU [116]. Tal i com suggereix el nom, la patogènia té diferents alteracions genètiques, afectant tant a les cèl·lules B com les cèl·lules T. També pot aparèixer com a resultat de tractaments immunosupressors com els que es fan servir al lupus. Els nivells d'Igs normalment són <300mg/dL (IgG<250mg/dL, IgA i IgM poden o no estar presents) [117].

Els símptomes més comuns, que apareixen entre la segona i la tercera dècada de la vida, són infeccions del tracte respiratori baix i alt, otitis mitja, sinusitis, pneumònies i bronquitis, així com artràlgies i conjuntivitis. Aproximadament la meitat dels pacients amb CVID tenen problemes gastrointestinals (malabsorció i diarrees cròniques) i els problemes d'autoimmunitat són freqüents.

En alguns pacients, els nivells normals de IgG poden emascarar els dèficits d'un o més subtipus d'IgG. Segons l'edat varia el subtipus d'Ig, el dèficit de IgG3 és més freqüent en adults i en canvi en nens és el dèficit d'IgG2. Sabem que les infeccions per *Haemophilus influenzae* i *Streptococcus pneumoniae* són més prevalents en pacients amb dèficit de IgG2, però en aquest pacients la inoculació amb la vacuna antipneumocòcica o per l'influenza obtenen escassa resposta immunològica [118].

3.6.4. Dèficit de subclasses d'IgG

De les quatre subclasses d'IgG, els dèficits més freqüents són els de IgG2 i IgG3. Alguns autors suggereixen que és un tipus d'immunodeficiència primària que causa infeccions de repetició i bronquiectasis [119], tot i que no està ben corroborat excepte si existeix associació amb dèficit d'IgA [120].

3.6.5. Dèficit Selectiu d'IgM (SIgMD)

Aquest dèficit de IgM és una forma rara d'hipogammaglobulinèmia, amb una incidència anual de 0.03%. Tot i que es pot donar com a immunodeficiència primària, és molt més freqüent que sigui adquirida i associada a una altra condició que sol ser malignitat, autoimmunitat o pacients tractats amb immunosupressors [121]. Els nivells d'IgM en els pacients amb SIgMD van d'indetectables fins a 40mg/dL [122], amb uns nivells de IgG i IgA normals. Tot i que alguns pacients són asimptomàtics, d'altres són susceptibles a infeccions per bacteris capsulats, i els nens freqüentment es sobreinfecten per infeccions devastadores com les meningitis, les pneumònies o les sèpsies per gram-negatius [121].

3.6.6. Immunodeficiències adquirides

Hi ha tot un conjunt de situacions que condicionen immunodeficiència i descens de les Ig. La *taula 9* mostra, de forma resumida, el grup de patologies que comporten un dèficit d'Igs [109].

Taula 9. Dèficits d' Igs en les principals immunodeficiències adquirides.

Patologia – Tractament	Dèficit d'Ig	Infeccions més freqüents
Transplantament d'òrgans	IgG	Pneumònia, bacterièmia, infeccions bacterianes, infecció per CMV, Aspergil·losis invasiva, infeccions fúngiques
Teràpia immunoabsortiva (afèresis).	IgG, IgA i IgM	Infeccions del tracte respiratori, influença, conjuntivitis.
Leucèmia limfàtica crònica	IgG3 i IgG4	Infeccions del tracte respiratori, infeccions fúngiques oportunistes, infeccions per herpes.
Síndrome nefròtic i enteropaties perdedores de proteïnes	IgG i IgA	Infeccions del tracte respiratori superior, urinàries, peritonitis, pneumònia, diarrea enteroinvasiva.
Carbamazepina Clorpromazina Oxcarbazepina Corticosteroides	IgG (IgG2, IgG4) i IgA IgG, IgA, IgM IgG, IgA, IgM i dèficit cèl B. IgG, IgA, IgM i dèficit cèl. B	
Sèpsia	IgG, IgA i IgM	

Hem de destacar que en el diagnòstic de les immunodeficiències secundàries és de vital importància detectar la causa desencadenant, ja que sovint el tractament adequat sobre la causa condicionarà una recuperació de les Igs, ja que són immunodeficiències que es produeixen o bé per pèrdua de proteïnes, o bé per dificultats en la síntesi o bé per consum.

En el cas que la causa sigui la sèpsia o les infeccions virals, existeix una dificultat afegida en el diagnòstic, ja que no sempre podem discernir entre si el pacient presenta una hipogammaglobulinèmia secundària al procés sèptic o bé si ha estat el dèficit previ de les

Igs la causa que ha propiciat la sèpsia o infecció (immunodeficiència primària no diagnosticada i asimptomàtica). Per tant serà necessari fer un seguiment dels pacients per valorar l'estat immunològic en el temps i poder classificar-los com a dèficits adquirits o primaris.

3.7. Aplicacions mèdiques de les Igs

Des de fa més de 50 anys l'ús de les Igs endovenoses (IGIV) s'han utilitzat en el tractament de les immunodeficiències. El mecanisme d'acció de les IGIV són complexos i inclouen propietats antiinfectives, immunoreguladores i antiinflamatòries. En les immunodeficiències primàries i secundàries, les IGIV intenten restaurar la funció humoral mitjançant l'increment dels nivells d'AcS, activant altres funcions immunes com l'activació de complexos immunosupressors. Entre les funcions immunomoduladores de les IGIV es troben, a curt termini la neutralització de la circulació d'autoanticossos o superantígens, el bloqueig dels esdeveniments mediats per receptors de la Fc, i la modulació de les citokines. A llarg termini, la teràpia IGIV promouria la producció d'AcS i regularia la producció de citokines per les cèl·lules T supressores o helper. Les accions antiinflamatòries vindrien donades per múltiples mecanismes com la reducció del dany produït pel complement, la neutralització de toxines microbiològiques i l'activació dels leucòcits.

Figura 18. *Impacte de les Igs endovenoses en el sistema immune [123].*

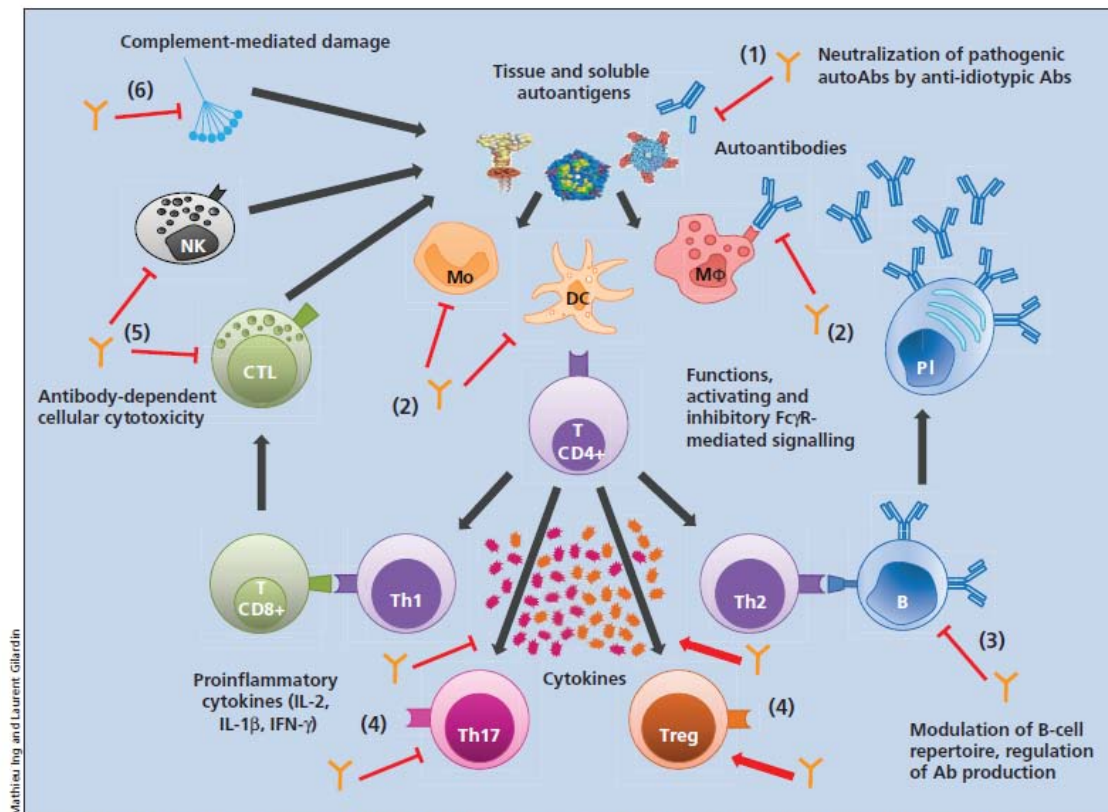


Figure 1: Impact of intravenous immunoglobulin on the immune system. Exposure of autoantigens triggers the recognition by antigen-presenting cells, leading to activation and polarization of T helper cells. T helper cells and innate cells provide activation signals through cytokines, which leads either to production of autoantibodies from the differentiated B cells into plasma cells or to tissue damage from the release of inflammatory mediators by immune cells, complement activation and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. Intravenous immunoglobulin interacts with various cellular and soluble components of the immune system involved in the inflammatory and autoimmune process: (1) it neutralizes pathogenic autoantibodies through the anti-idiotypic network; (2) it modulates the expression of Fc receptors and inhibits the maturation and activation of antigen-presenting cells; (3) it regulates antibody synthesis and the B-cell repertoire; (4) it shifts the balance between subsets of T helper cells and downregulates the production of pro-inflammatory cytokines by T cells; (5) it blocks antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; and (6) it blocks complement activation. Orange antibody structures = intravenous immunoglobulin; dark grey arrows = activation signalling; red arrows = agonist effect of intravenous immunoglobulin; red T bars = inhibitory effect of intravenous immunoglobulin. Ab = antibody, B = B cell, CTL = cytotoxic T cell, DC = dendritic cell, FcγR = Fcγ receptor, IFN = interferon, IL = interleukin, Mo = monocyte, Mφ = macrophage, NK = natural killer cell, Pl = plasma cell, Th = T helper cell, Treg = regulatory T cell.

En els últims 15 anys, la demanda i consum d'Igs exògenes, ja sigui via endovenosa o bé subcutània, s'ha triplicat [124]. L'increment de la demanda ha augmentat la necessitat de donants i la introducció de noves tècniques de fraccionament i de processament del sèrum per optimitzar l'obtenció de producte. D'altra banda també ha estat necessari la revisió de quins són els casos on s'han d'indicar Igs, les dosis, i els mètodes d'administració. De forma paral·lela, també estan en desenvolupament estudis sobre biomarcadors que indiquin quins pacients són o no responedors a les Igs, de la indicació

d'altres immunomoduladors coadjuvants o de si la dosis a administrar ha de ser o no en funció del pes del pacient. Per tant, la indicació de les Igs encara és un tema a debat en el món científic i de contínua revisió.

Al setembre del 2004, la University HealthSystem Consortium (UHC) va crear un comitè d'experts multidisciplinar per definir l'ús apropiat de les IGIV. Aquest grup de 10 clínics experts van identificar 54 indicacions, 3 es van considerar acceptades per l'ús clínic, 38 no recomanades i 13 no recomanades de rutina però que s'havien de considerar sota algunes circumstàncies concretes [125]. En els següents anys, la UHC ha anat fent revisions periòdiques, i també altres societats científiques han creat les seves guies d'ús, com ara la publicada al 2003 per la Autoimmune Mucocutaneous Blistering Diseases Consensus Development Group [126] o bé la del 2007 per Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology [127], així com recomanacions d'altres entitats mèdiques [128,129,130].

Per concretar les indicacions, ens centrarem en les recomanacions europees més actuals que es van publicar al 2014 [131]. A la *taula 10* resumim les patologies on les Ig estan indicades com a tractament prioritari.

Si revisem la *taula 10*, no trobem com indicació prioritària l'ús de IGIV en els pacients amb sèpsia o altres malalties infeccioses, com ara les pneumònies, però aquest és un camp d'investigació on actualment apareixen noves dades.

Taula 10. Indicacions de tractament amb IGIV.

IGIV com teràpia de reemplaçament

Síndrome d'immunodeficiència primària

- Agammaglobulinèmia congènita i hipogammaglobulinèmia
- Immunodeficiència comú variable
- Immunodeficiències combinades greus
- Síndrome Wiskott-Aldrich

Síndrome d'immunodeficiència secundària

- Mieloma
- Leucèmia limfàtica crònica
- HIV congènit-pediàtric amb infeccions recurrents
- Post-tractament de Teràpia anti-CD20
- Transplantament d'òrgan sòlid post tractament immunosupressor
- Malalties autoimmunes: artritis reumatoide, anèmia hemolítica, Sjogren...
- Fallida d'Ac per medicació immunosupressora o altres fàrmacs

IGIV com tractament immunomodulador

- Púrpura Trombocitopènica Idiopàtica (PTI)
- Malaltia de Kawasaki
- Transplantament alogènic de moll d'os.
- Síndrome de Guillain-Barré
- Poliradiculopatia inflamatòria desmielinitzant crònica (CIDP)
- Neuropatia multifocal motora (MMN)
- Miastenia gravis
- Trombocitopènia fetal-neonatal al·loimmune
- Malaltia fetal hemolítica
- Malalties dermatològiques: miositis, polimiositis, necrolisis epidèrmica tòxica, pènfig/penfigoide.

3.7.1. Immunoglobulines i Sèpsia

La sèpsia és una resposta sistèmica exagerada de l'hoste en resposta a una infecció, associat a una disfunció orgànica i immunosupressió [132-134]. El sistema immune, com hem vist, és un entramat de marcadors de membrana, citoquines, cèl·lules immunes, receptors... cadascú amb les seves funcions, que en conjunt eviten la invasió i propagació dels patògens. De forma molt general, podem dir que s'alliberen un conjunt de substàncies inflamatores i d'altres antiinflamatores per tal de controlar la infecció. Tant la sobreestimulació com la infraestimulació del sistema immune, generarà una evolució desfavorable de la sèpsia que pot acabar en la mort del pacient.

Per tal d'evitar el mal pronòstic de la sèpsia, hi ha tot un conjunt de mesures ben establertes per la Societat de Medicina Intensiva, mitjançant unes guies d'actuació que s'han de realitzar en les primeres 6 hores de la infecció[135]. Aquestes guies estan en continua revisió, dintre d'un programa d'actuació dinàmica que es coneix com "Surviving Sepsis Campaign" [136]. Tot i que el seguiment de les guies ha millorat el pronòstic, la mortalitat associada a la sèpsia i als xocs sèptics encara és elevada, d'un 20-30% [137,138]. Per això s'investiga sobre noves teràpies, com ara les IGIV. Donat que una de les propietats de les Igs és la modular la inflamació i unir-se a les toxines, s'ha proposat l'ús d'IGIV com a tractament coadjuvant a la teràpia convencional de la sèpsia. Fins ara, els resultats dels diferents estudis d'ús IGIV en pacients sèptics, que a continuació comentarem, han mostrat resultats contradictoris que no permeten establir una evidència ferma de l'ús d'Igs de forma rutinària, ni en adults ni en població pediàtrica[139-141].

3.7.1.1. Comportament de les Ig a la sèpsia

Tot i que hi ha estudis randomitzats i controlats on s'utilitza la teràpia amb IGIV en el pacient sèptic, els nivells de les concentracions d'Igs durant la sèpsia no està ben definit, ni tampoc existeix, entre els treballs fins ara publicats, una estratificació entre la gravetat i les concentracions de les Igs en sèrum [139].

Hem de destacar el treball de Taccone *et al.* [142], ja que és el primer estudi en pacients sèptics, que mira el comportament i l'evolució de les Igs durant la sèpsia. Es un treball prospectiu i no intervencionista, obert, que recluta pacients amb xoc sèptic, seguint els criteris estàndards de sèpsia [136]. Analitza en sang els nivells de gammaglobulines en el primer dia d'ingrés a UCI, i els dies 3, 5, 7 i 10 d'evolució i posteriorment cada 5 dies fins l'alta de la Unitat de Medicina Intensiva. Defineix uns criteris de nivells baixos de gammaglobulinèmia, per la IgA, IgM, IgG [143]. Recluta 21 pacients, 6 es moren (28.5%), i d'entre els quals detecta 16 pacients (76%) amb nivells baixos d'Igs, sobretot de predomini IgG. L'estudi conclou que tenir nivells baixos de gammaglobulines en sèrum és comú en els pacients amb xoc sèptic adquirit a la comunitat i que persisteix durant tot l'ingrés a UCI, tot i que la sèpsia es resolgui. A més, els pacients amb Igs baixes tenen una major mortalitat que els pacients que no la presenten. Finalment postula que la determinació de IgG en els xoc sèptic podria ajudar a seleccionar aquells pacients que es beneficiarien d'un tractament amb IGIV.

En la mateixa línia, el grup de Myrianthefs *et al* [144], estudia 38 pacients que desenvolupen xoc sèptic intraUCI (no comunitari) i mesuren els nivells d'Igs (IgG i IgM) en el dia 1, 4, 10 i 24 de la sèpsia. Van trobar nivells baixos d'Igs en només el 31.6% dels pacients, i no van trobar diferències de mortalitat entre grups.

Posteriorment, Venet *et al* [145] va estimar el nivells de IgG, IgA i IgM i de proteïnes circulant en el sèrum de 62 pacients sèptics, en els dies 1-2 (n=44), dies 3-4 (n=62), i dies 5-7 (n=18). La IgM i la IgG van ser significativament més baixes en els pacients a l'inici del xoc sèptic, però de forma ràpida retornaven a valors normals. No van trobar diferències significatives entre vius i morts (als 28 dies), ni correlacions de gravetat ni morbiditat. En canvi Tamayo *et al* [146], recluta 42 pacients amb shock sèptic, i els hi mira els nivells de IgG (i subclasses), IgA, IgM i IgE. Compara el grup de pacients sèptics amb 36 pacients amb síndrome de resposta inflamatòria sistèmica (SIRS), els quals procedien de cirurgia cardíaca o cirurgia abdominal. Van concloure, que d'una banda hi havia una associació inversa entre la gravetat (segons APACHEII) i els nivells de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 i IgA. I d'altra banda, en termes de mortalitat, els pacients amb xoc sèptic que es morien tenien, de forma significativa, uns nivells de IgG1 i IgG Total baixos, respecte als pacients amb xoc sèptic que no es morien i els pacients amb SIRS. Andaluz-Ojeda *et al* [147], va trobar uns resultats similars en 50 pacients amb infecció comunitària o associada a institucions, i va concloure que els pacients sèptics que es morien tenien un nivells d'IgG i CD4 més baixos, significativament, respecte als supervivents. Finalment, l'estudi amb major població és el de Bermejo-Martín *et al* [148], un prospectiu amb 172 pacients de UCI que tenen sèpsia greu o xoc sèptic, i en els quals analitza els nivells d'Igs i subtipus, observant que la combinació de nivells baixos de IgM, IgG1 i IgA de forma sinèrgica, s'associa a una reducció de la supervivència en aquests pacients. En base a això, i com ja fa Taccone *et al*, aquest grup torna a recomanar fer nivells d'Igs en els pacients sèptics per tal de poder optimitzar un futur tractament amb Igs.

Recentment s'ha publicat una revisió de 8 estudis[149] amb l'objectiu d'avaluar el risc de mortalitat associat a la hipoimmunoglobulinèmia G en els adults amb sèpsia greu, que requereix de maneig a UCI. Conclouen que la prevalença de nivells baixos d'IgG en el dia del diagnòstic de la sèpsia és elevada (un 70%), però no s'associa a mortalitat. Aquest treball detecta una qualitat limitada dels estudis que l'integren, amb heterogeneïtat de les seves cohorts de pacients, i una ampla variabilitat dels nivells normals i límits baixos de la IgG. Per tot això suggereixen la necessitat de nous treballs focalitzats en buscar un punt de tall de la IgG que pugui ser marcador pronòstic de la sèpsia, així com determinar bé el període finestra per mesurar la IgG sèrica. Després d'aquestes suggerències, proposen l'ús de la IgG com mesura estratificadora per administrar tractament amb IGIV en el pacient sèptic.

3.7.1.2. Raonament biològic per l'administració d'IGIV a la sèpsia.

La sèpsia és el resultat d'una complexa interacció entre el microorganisme infectant i la resposta immunitària de l'hoste. A la sèpsia greu la resposta exagerada del sistema immune altera la homeòstasis interna de l'hoste activant la cascada d'inflamació, de coagulació i de fibrinòlisis de l'hoste, contribuint a la disfunció de la perfusió tissular i la fallida d'òrgans. Les respostes pro-inflamatòries i anti-inflamatòries són seqüencials durant la sèpsia, primer s'activa la fase pro-inflamatòria, amb un increment exagerat de citokines i substàncies com el factor de necrosis tumoral (FNT), la Interleucina I (IL1), la IL6, que indueixen a una tempesta de citokines [150]. Si la sèpsia continua, posteriorment s'activen els mecanismes anti-inflamatoris que danyen o ataquen el

sistema immune innat i adaptatiu, amb la pèrdua, per apoptosis, de limfòcits CD4 i CD8, cèl·lules B i cèl·lules dendrítiques [151-153].

Les IGIV regulen i modulen la resposta inflamatòria del sistema immune, tot i que no coneixem amb exactitud els mecanismes d'acció. De forma resumida, a la *taula 11* es presenta les principals funcions moduladores de les IGIV [154].

Taula 11. Principals mecanismes d'acció IGIV per modular els sistema immune. Adaptació [131,154]

Activitats mediades per F(ab) ²	Activitats dependents de Fc
Supressió o neutralització de citoquines	Bloqueadors del FcRn (Fc del receptor neonatal de la IgG)
Neutralització de components del complement activats.	Modulació de l'activació del FcγRs (Receptor de la Fc-IgG)
Neutralització dels auto-Ac (anti-idiotips) i unió a la regió variable de les cèl·lules T i B.	"Sobre-regulació "del inhibidor FcγRIIIB (Receptor de Fc-IgG amb activitat inhibidòria)
Bloqueig de les molècules d'adhesió leucocitària	Immunomodulació mitjançant l'àcid siàlic de la IgG.
Identificació dels receptors de superfície de membrana de cèl·lules immunes com zones diana.	Increment de la proliferació i efectes immunosupressors de les cèl·lules T reguladores
Modulació de la maduració i funcions de les cèl·lules dendrítiques	
Bloqueig de l'activitat de les Natural-Killer.	

D'aquestes funcions destaquem el paper de l'àcid siàlic, que s'uneix al fragment cristal·litzable de la IgG (FcIgG), i aquest complex glicosilat es reconegut per uns receptors dels macròfags, produint un potent efecte antiinflamatori [155]. La glicosilació de la FcIgG és important a l'hora de plantejar tractaments amb les IGIV exògenes o bé fer tractaments per glicosilar les IgG natives.

En estudis experimentals, s'ha vist que les Ig polivalents poden opsonitzar, prevenir l'activació del complement, protegir contra les endotoxines induïdes per antibiòtics i neutralitzar endotoxines i superantigens [156]. S'ha demostrat en estudis animals, l'efecte protector de les IGIV en models amb una coagulació intravascular disseminada i fallida d'òrgans post infusió de lipopolisacàrids (LPS). El benefici s'atribueix a l'atenuació de la cascada pro-inflamatòria, disminuint els nivells de FNT i IL6 en els grup tractat amb IGIV [157]. A més el dany que provoquen els LPS sobre el flux sanguini a nivell de microcirculació es veu atenuat per la infusió d'Igs [158].

Les IGIV poden modular diferents grups de limfòcits T, en concret els limfòcits "helper" (Th-17) i els T reguladors (Treg). In vitro, s'ha observat com les IGIV inhibeixen la proliferació i la maduració de les Th17 humanes i les seves citoquines (descens de IL-17A, IL-17F, IL-21 i CCL20) [159]. De forma similar, Kessel *et al.* [160] va demostrar com les IGIV augmentaven l'efecte supressor dels limfòcits T CD4⁺ i CD25⁺ sobre el descens del FNT- α , i d'altres treballs van mostrar un increment en la proliferació dels limfòcits T reguladors [161,162].

També s'han investigat el paper dels Acs "catalítics", que són Igs dotades de la capacitat d'hidrolitzar un substrat antigènic. Els isotips IgG i IgM tenen de forma natural aquesta propietat [162,164] i participen en la destrucció dels residus metabòlics i protegeixen d'infeccions bacterianes, a través de l'habilitat de convertir l'oxigen molecular en peròxid d'hidrogen i ozó [165,166]. Els Acs catalítics, a més de regular la resposta inflamatòria i participar en el control de la trombosis intravascular disseminada, sembla que en la sèpsia tenen un paper fonamental. Lacroix-Demazes *et al* [167], va mirar l'activitat catalítica de la IgG en 34 pacients amb sèpsia greu o xoc sèptic, i va veure que la supervivència

acumulada era més elevada en els pacients amb major rati d'IgG catalítica, comparat amb pacients amb baix rati catalític, de forma significativa. Per tant, l'administració d'IgG enriquida amb Acs catalítics podria ser una opció terapèutica a la sèpsia [154].

3.7.1.3. Tipus d'Immunoglobulines endovenoses

Existeixen en el mercat diferents tipus i preparats d'Igs, però segons el seu mecanisme d'acció els podem agrupar en tres grups: les Igs o anticossos monoclonals, les Igs poliespecífiques o polivalents i els antagonistes de les citoquines [168].

Els **Acs monoclonals**, són Igs que s'han preparat de forma específica i dirigida contra algun Ag determinat (endotoxina, proteïnes bacterianes o citoquines). Existeixen múltiples anticossos monoclonals en el mercat, però el seu ús a la sèpsia és restringit. A la *taula 12* es resumeixen els Acs monoclonals més utilitzats a la sèpsia.

Taula 12. *Acs monoclonals a la sèpsia . Adaptació [168].*

Tipus d'Ac monoclonal	
E5	Ac monoclonal IgM murí preparat amb una variant de E.coli, desproveïda de la cadena de polisacàrids lligada al lípid A. Permet dirigir Ac contra un component patogènic comú en els bacils gramnegatius.
HA-IA	Ac monoclonal similar al E5 però amb la porció Fc humana que permet una menor sensibilització.
Anti-Antígen comú d'enterobactèries	Ac monoclonal murí dirigit a un glicofosfolípid de superfície comú a la família <i>Enterobacteriaceae</i> .
Anti-TNF α i variants	Ac monoclonal murí contra el FNT α . També s'ha fet servir només el fragment F(ab) de l'ac murí per reduir la immunogenicitat, facilitar la seva penetració a teixits i minimitzar la interacció amb els receptors Fc.

Les **Igs poliespecífiques o polivalents**, són un producte d'ús endovenós i subcutani, de naturalesa heterogènia, preparada a partir d'un pool sanguini de 10.000 a 20.000 humans. Conté més del 90% d'IgG en forma monomèrica, poliespecífica, amb una distribució normal de les subclasses, lliure d'agregats, amb quantitats mínimes d'altres Igs

i lliures d'agents infecciosos. Els preparats de Igs polivalents difereixen en el tipus d'Ig predominant i es classifiquen bàsicament en dos grups: aquells que tenen la IgG (monoclonals) i aquells que estan enriquits amb IgM i a vegades també amb IgA (policlonals). Són les Ig polivalents les més utilitzades en la sèpsia greu i els xoc sèptic, amb les funcions que ja hem definit a la *taula 11*.

A continuació s'exposen els productes que actualment estan al mercat farmacèutic i una comparativa del principals components [169].

Tabla 13. Propietats dels diferents productes amb Ig. Adaptació [169].

Fàrmac	Albúmina	IgG	IgA	IgM
Gammagard S/D. Baxter Healthcare	<300µg/ml	>90%	≤2.2	-
Gamunex 10%. Grifols Therapeutics Inc	<20 µg/ml	>98%	46 µg/ml	-
Carimune NF. CSL Behring	0	>96%	720 µg/ml	-
Flebogamma 5%. Grifols Therapeutics Inc	2 µg/ml	>99%	-	-
Octagam. Octopharma USA Inc	No avaluable	>96%	<200 µg/ml	<100 µg/ml
Gammagard Liquid 10% Baxter Healthcare	0	>98%	37 µg/ml	-
Privigen. CSL Behring	-	98%	<25 µg/ml	-
Gammaplex 5%. Bio Products Laboratory	0	>95%, IgG1 64% IgG2 30% IgG3 5% IgG4 1%	<10 µg/ml	
Gammaked 10%. Grifols Therapeutics Inc	<2 µg/ml	>98% IgG1 62.8% IgG2 29.7% IgG3 4.8% IgG4 2.7%	0.046 µg/ml	-
Bivigam 10%. Biotest Pharmaceuticals	0	>96%	≤200 µg/ml	-

L'últim grup són els **antagonistes de les citoquines**, no són ben bé Igs, però tal i com hem vist les citoquines estan involucrades en el procés sèptic i la seva funció és conjunta amb les Igs. Els dos antagonistes de les citoquines que s'han fet servir a la sepsis es resumeixen a la següent taula.

Taula 14. Antagonistes de les citoquines.

Antagonista	
IL-ra: antagonista del receptor de IL-1	Molècula recombinant destinada a antagonitzar l'efecte de la IL-1 en els seus receptors naturals. Efecte anti-inflamatori.
Proteïnes de fusió del receptor soluble del Factor de necrosis Tumoral alfa (FNT α)	Proteïna de fusió de la porció Fc de la IgG humana amb alguns dels dos receptors solubles del FNT. Efecte anti-inflamatori per antagonisme competitiu concentració-depenent amb els receptors de membrana.

3.7.1.4. Estudis i metanàlisis sobre l'ús d'IGIV

Des dels anys 80, s'està proposant l'ús IGIV com teràpia adjuvant per la sèpsia greu o xoc sèptic, però el seu impacte sobre la mortalitat no queda prou clar en els estudis per tal de poder acceptar o rebutjar de forma protocolitzada aquest tractament. El principal problema radica en una qualitat limitada dels estudis, amb heterogeneïtat de les seves cohorts de pacients, i una àmplia variabilitat en els criteris tant de sèpsia com de tractaments amb IGIV [Taula 15].

Taula 15. Estudis de sèpsia i teràpia amb IGIV.

Estudi	Criteris de sèpsia	Disseny i Intervenció	Resultats de Mortalitat	Limitacions
Cavazzuti et al. (2014) [170]	Definicions segons conferència Internacional de sèpsia [127]	Retrospectiu. IgGAM 250mg/dia (20mg/Kg/h) tres dies. N= 168 pacients (76 controls/92 IgGAM)	OR 0.17 (IC 95% 0.06-0.49; p=0.001). Un 20% de reducció en els risc de mortalitat als 30 dies en els pacients amb xoc sèptic tractats amb IgM.	Disseny retrospectiu observacional. Població petita. Bias de selecció (pacients amb tractament tenien SOFA i SAPS II més elevats). No identificats els efectes adversos.
Werdan et al. (2007) [171]	Tenir: 4 dels 9 criteris de sèpsia [127]. Sepsis Score entre 12 i 27 APACHE II entre 20 i 35.	Prospectiu. Randomitzat Doble-cec. Multicèntric. IgG 0.6g/kg/dia (el dia zero) i 0.3g/Kg/dia (el dia 1 o 2). N= 624 (control 303 pacients/ IgG 321)	Mortalitat als 28 dies en grup placebo de 37.3% i en grup tractament de 39.3%, no significatiu.	No utilitza Igs enriquides
Hentrich et al. (2006) [172]	Criteris de ACCP/SCCM (1992) Diagnòstic de malignitat hematològica Neutropènia	Prospectiu, randomitzat, controlat i multicèntric. IgGAM 1300ml ev en 72 h (IgM 7.8g, IgA 7.8g, IgG 49.4g). N=197 (101 control/96 IgGMA)	No benefici de IgGAM ev en pacients neutropènics amb malaltia hematològica i xoc sèptic o sèpsia. Mortalitat 28 dies: 26.2% amb IgGAM i 28.2% controls (no significatiu).	No és doble cec. La mortalitat als 28dies va ser més baixa de lo esperat en el grup control.
Rodriguez et al. (2005) [173]	Sèpsia greu/xoc sèptic segons ACCP/SCCM (1992) de focus intraabdominal confirmat quirúrgicament en les primeres 24h d'inici dels símptomes.	Prospectiu, randomitzat, doble cec controlat, multicèntric. IgGAM ev (IgA 6g/L, IgM 6g/L, IgG 38g/L) 7ml/kg/dia durant 5 dies. N=56 (27 control/29 IgGAM)	Mortalitat va ser més baixa en grup IgGAM (27.5%) vs grup control (48.1%) però no significativa (p<0.06)	Mostra insuficient Resultat no extrapol·lables a infeccions extra-abdominals.

Darenberg et al. (2003) [174]	Definició de consens per Síndrome del xoc tòxic estreptocòcic.	Randomitzat, Prospectiu, doble cec, multicèntric IgG ev (1g/Kg primer dia i 0.5g/Kg el dia 2 i 3). N= 21 (11 control i 10 IgG).	Mortalitat va ser més elevada (3.6 vegades més) en el grup placebo però no significatiu (p 0.3)	Estudi finalitza prematurament per baix reclutament de pacients.
Tugrul et al. (2002) [175]	Sèpsia greu	Randomitzat, Prospectiu. IgGAM ev (IgA 6g/L, IgM 6g/L, IgG 38g/L) 5mg/Kg/dia infusió en 6 hores i durant 3 dies N= 42 (21 control i 21 IgGAM)	Mortalitat-28 dies va ser del 33.3% grup control i 23.8% en grup amb IgGAM, no significatiu (p 0.6)	Població petita No és doble cec Criteris de sèpsia no es basen en les guies, sinó criteris definits pel grup investigador.
Karatzas et al. (2002) [176]	Sèpsia greu	Randomitzat, Prospectiu. IgGAM ev (IgA 6g/L, IgM 6g/L, IgG 38g/L) 5mg/Kg/dia infusió en 6 hores i durant 3 dies. N= 68 (34 control i 34 IgGAM).	Mortalitat-28 dies pel grup control de 40.0% i 22.35% pel grup IgGAM , significativa.	La publicació dels resultats és en format carta i els autors indiquen que són dades preliminars, però no s'han arribat a publicar els resultats definitius.
Masaoka et al. (2001) [177]	Criteris ACCP/SCCM (1992)	Randomitzat, controlat i multicèntric. No especifica la preparació d'Ig; 5g/dia durant 3 dies, en pacients que presenten mala evolució al 3r dia d'antibiòtic	Mortalitat de 47.3% pel grup control i 61.5% en el grup Ig. (p<0.001).	Definició de sèpsia poc clara Dosis d'Igs molt més baixa respecte a la majoria d'estudis.
Dominioni et al. (1996) [178]	Sèpsia post-quirúrgica o post-traumàtica amb Sepsis Score >17	Randomitzat, controlat , doble cec, multicèntric. IgG ev 0.4g/Kg dia 0, 0.4g/Kg dia 1, 0.2g/Kg durant 5 dies. N=51 .	Reducció de la mortalitat del 29% en el grup IgG ev vs el 61% del grup placebo (p=0.021)	Bias de selecció: només pacients quirúrgics.

Behre et al (1995) [179]	Criteria ACCP/SCCM i diagnòstic de malignitat hematològica i neutropènia	IgGAM ev (IgA 6g/L, IgM 6g/L, IgG 38g/L). Càrrega de 10g i continuar 5g durant 5h, tres dies.	Disminució de la mortalitat	Anàlisi intermig
Schedel et al. (1991) [180]	Detecció Endotoxaèmia (>12.5pg/ml endotoxina) i al menys 5 dels criteris clínics de sepsis	Randomitzat, controlat, obert, prospectiu IgGAM ev (IgA 6g/L, IgM 6g/L, IgG 38g/L). Infusió de 600ml >8h el primer dia i el dia 2 i 3 infusió de 300ml >8h. N=55 (28control/27 IgGAM)	Reducció de la mortalitat del 4% en els pacients amb IgGAM vs 32% del placebo (p<0.01)	Estudi obert, no cec. Bias de selecció (dels possibles 860 pacients només es van incloure 69). Múltiples subanàlisis.
Dominioni et al (1991) [181]	Sèpsia post-quirúrgica o post-traumàtica amb Sepsis Score>20	Randomitzat, controlat, doble cec, multicèntric. IgG ev 1g/Kg N=62	Reducció de la mortalitat del 33% el grup IgG vs el 67% del placebo (p<0.05)	Bias de selecció: només pacients quirúrgics
Wesoly et al. (1990) [182]	Sèpsia post-quirúrgica amb Sepsis Score>12	Randomitzat IgGAM ev (IgA 6g/L, IgM 6g/L, IgG 38g/L). 0.25g/Kg/dia N= 35 pacients	No diferències de mortalitat (44% IgGAM vs 76% control)	No cec Mostra petita
Grundmann et al. (1988) [183]	Infecció bacteriana per Gram-negatiu post-quirúrgica amb endotoxina positiva en plasma durant dos dies i Sepsis Score>12	Randomitzat 0.25g/kg IgG ev/dia N = 46 pacients	No diferències significatives de mortalitat entre el grup tractat (63%) i el control (86%)	No cec Inici del tractament tardà (>48h de la sèpsia). Població petita Baixes dosis d'Ig.
De Simone et al. (1988) [184]	Sèpsia greu	Randomitzat IgG ev 1g/Kg N= 24	No diferències significatives de mortalitat (58% IgG ev vs 75% control)	No cec Molt baix poder estadístic

Fins a l'actualitat existeixen set metanàlisis per avaluar el impacte de les IGIV en la mortalitat dels pacients amb sèpsia greu bacteriana i xoc sèptic. El primer metanàlisi de la Cochrane Library es va publicar al 2000 per Alejandria et al. [185] i posteriorment es va actualitzar en el 2002 [186]. Agrupa 27 assaigs clínics randomitzats, 11 amb ús d'Ig monoclonal (IgG) o policlonal (IgG-IgM-IgA) endovenosa, 8 estudis amb anticossos antiendotoxines i 8 amb anticossos anticitoquines. La major part dels estudis van ser en pacients adults, 4 estudis en nounats i un en nens. Ni els Acs anti-endotoxina ni els anti-citoquines van mostrar eficàcia. Tampoc es va veure reduït el risc de mortalitat en els nounats (Risc relatiu [RR] 0.62, IC 95% 0.49-0.79). Però en el subgrup de 11 assaigs amb IGIV policlonal, en adults, es va demostrar una reducció significativa de la mortalitat (RR 0.64; IC 95%: 0.51-0.80), i aquesta tendència es va mantenir en els treballs de millor qualitat en el disseny (RR 0.56; IC95% : 0.57-0.93). A més destaca que en els estudis on s'utilitza preparacions d'IgG enriquida amb IgM encara el benefici s'incrementa (RR 0.48; IC 95%: 0.30-0.76). El problema principal dels treballs que inclou aquest metanàlisi és la falta d'uniformitat en les definicions de la sèpsia i els estudis de forma individualitzada tenen mostres petites de pacients, per tant la evidència és inadequada i no pot concloure un benefici de les IGIV en la mortalitat.

Posteriorment Pildal et al [187] publica una revisió de 20 estudis (1711 adults) on troba un risc relatiu de mortalitat amb el tractament amb Igs de 0.77 (IC 95% 0.68-0.88, $p=0.0001$). Però si analitza els 4 estudis d'alta qualitat metodològica (763 pacients, amb mortalitat de 255 d'ells) no es veu l'efecte sobre la mortalitat (RR 1.02; IC 95% 0.84-1.24, $p=0.87$). Conclou per aquesta raó que no es pot recomanar la Ig policlonal com a tractament de la sèpsia.

En el 2007, Laupland et al [188] inclou 27 estudis (15 en adults i 12 en nounats), i va estimar un risc acumulat de mortalitat de 0.66 (IC95% 0.53-0.83, $p < 0.0005$), reduint la mortalitat un 21% en els adults i un 44% en els nounats en aquells que rebien tractament amb Igs. Però en analitzar els 4 estudis d'alta qualitat metodològica tampoc va confirmar la reducció de mortalitat.

En el mateix any, apareixen nous treballs amb preparacions amb IgG enriquida amb IgA i IgM (IgGAM), mostrant un benefici major d'aquestes front la infusió única d'IgG. Kreymann et al [189], en adults, estima un risc relatiu acumulat de 0.66 (IC95% 0.51-0.84, $p < 0.0009$) per la IgGAM *versus* un 0.85 (IC 95% 0.73-0.99, $p < 0.04$) per la IgG, que equivalen a un 34% i 15% de reducció de risc de morir, respectivament, tot i que aquesta diferència a favor de la IgGAM no va ser significativa. En nounats, el risc relatiu acumulat va ser més baix que en adults (RR 0.56, IC 95% 0.42-0.74, $p < 0.0001$), i les diferències entre IgGAM i IgG van ser lleugeres (RR 0.50 per IgGAM i 0.79 per IgG). Turgeon et al [190], en 20 estudis ($n=2621$), mostra amb l'ús d'Ig policlonal (IgGAM) un descens de la mortalitat (RR 0.74, IC 95% 0.62-0.89) comparat amb el placebo o la no intervenció. Aquest benefici és més rellevant en els pacients més crítics (sèpsia greu o xoc sèptic), quan el tractament s'administra a altes dosis (1 gram o més/Kg) i en períodes més perllongats (més de dos dies de tractament). Aquesta revisió presenta com limitacions la inclusió de molts treballs abans de les definicions estàndard de la sèpsia del 1992.

El fet que l'enriquiment amb IgM millori el risc de mortalitat, es degut al fet que la IgM és l'Ac que actua en la primera línia de la resposta immune i conté uns títols d'anticossos i opsonines elevats. La seva estructura pentamèrica facilita l'aglutinació dels bacteris i la resposta front al virus influenza. La IgM és immunomoduladora, presenta gran eficàcia

sobre la neutralització de toxines, amb l'aclariment d'epítops específics de l'oxidació i per tant té un efecte protector davant l'estrès oxidatiu que es produeix a la sèpsia [191-194]. A més, l'enriquiment amb IgA proporciona una forta activitat antiinflamatòria en els monòcits i cèl·lules mononucleades de la sang perifèrica [195]. Aquestes propietats de la IgM i la IgA, són de gran utilitat per frenar l'evolució de la sèpsia, i per tant l'administració precoç dels preparats d'Igs enriquides s'ha vist que milloren el pronòstic vital [196].

En els últims anys, amb l'aparició de nous treballs, Alejandria et al publica al 2010 un metanàlisi a la Cochrane [197] i una actualització d'aquest en el 2013 [198]. S'avalua, en 43 estudis, l'efectivitat de les Igs a la sèpsia bacteriana i xoc sèptic. Dels 42 estudis, 8 són amb antiendotoxina vs placebo, 9 anticitoquines vs placebo, 1 amb anticossos monoclonals per enterobacteris i 24 estudis amb Ig vs placebo o no intervenció (17 en adults i 4 en nounats amb estàndard IgG, 7 en adults i 3 en nounats amb enriquiment d'IgM). Tot i que de forma global, en els adults hi va haver una disminució del risc de mortalitat amb IgGMA, quan analitzen els 5 estudis que tenen major qualitat i menys desviacions, no hi ha diferències de mortalitat. En els nounats, tampoc hi ha diferències de mortalitat. Hem de destacar que en aquest últim metanàlisi inclou l'assaig clínic SBITS [171], que és fins ara l'estudi millor dissenyat d'ús d'IGIV. És un estudi multicèntric, randomitzat, doble cec, control-placebo, en 653 pacients amb sèpsia (definida segons els criteris de sèpsia actualitzats i gravetat segons l'escala APACHE II). Els pacients que rebien tractament, s'administrava IgG endovenosa a dosis de 0.6mg/Kg el dia 0 i 0.3mg/Kg en dia 1. Quan analitzen la mortalitat no van veure una reducció estadísticament significativa en el grup tractament. La crítica d'aquest estudi radica en que només utilitza tractament amb IgG, quan s'ha vist una major efectivitat si s'enriqueix amb la IgM.

Tal i com hem descrit, a la majoria d'estudis de sèpsia, la població adulta i neonatal està tractada i analitzada de forma conjunta. Però hem de destacar que la sèpsia neonatal és una entitat pròpia, amb diferent comportament que a l'adult o al nen més gran. És una de les causes més comuns de mortalitat neonatal i de discapacitat en el desenvolupament neuronal, això es degut a que la immunitat del nounat és immadura i prematura, amb una producció deficient d'IgG. La IgG materna travessa la barrera placentària a partir de les 32 setmanes de gestació i la producció pròpia per part del nen es dona a partir de les 24 setmanes després del naixement. Ohlsson i Lacy [199], en el 2001, fan un metanàlisi sobre l'ús profilàctic d'Ig, no específica, a la sèpsia neonatal, incloent 15 estudis (5054 nounats a terme o nens amb baix pes neonatal). No demostra ni una reducció en la incidència de la sèpsia (RR 0.85; IC 95% 0.74-0.98, $p=0.02$) ni una reducció de la mortalitat (RR 0.89; IC 95% 0.75-1.05). Al 2004 el mateix autor, publica un altre metanàlisi al Cochrane [200], per veure l'efecte de la IgG endovenosa en nounats amb sospita de sèpsia, amb una reducció significativa de la mortalitat (RR 0.63; IC95% 0.40-1.00). Els mateixos resultats s'obtenen en la revisió que es fa al 2010, pel mateix grup [201], ja que només s'inclou un estudi més. Els beneficis de les Igs en la sèpsia neonatal semblaven ser prou evidents com per recomanar els seu ús a les guies internacionals de sèpsia neonatal, amb un grau 2C [202]. Però al 2011, es realitza un estudi multicèntric, randomitzat, control-placebo, doble cec, conegut com INIS (International Neonatal Immunotherapy Study) [203] que no mostra diferències ni en la mortalitat ni en el desenvolupament neurològic dels pacients tractats amb Igs endovenoses. Aquest estudi, ha fet que l'ús d'IGIV quedi exclòs de les últimes guies internacionals de maneig de la sèpsia neonatal [204].

Taula 16. Resultats dels metanàlisis: efectivitat de les IGIV a la reducció de la mortalitat.

Autor, any [ref]	Nº RCTs	Nombre Pacients	Mortalitat RR-OR (95% CI: p)
Alejandro et al. 2002 [186]	27	492 adults	RR 0.64 (0.51-0.80) Tots RR 0.48 (0.30-0.76) IGIV-IgM enriquida.
Pildal et al. 2004 [187]	21	1711 adults	RR 0.77 (0.68-0.88 p=0.0001) Tots RR 1.02 (0.84-1.24 p=0.87) 4 estudis d'alta qualitat
Laupland et al. 2007 [188]	14	1484 adults	OR 0.66 (0.53-0.83; p<0.0005) Tots OR 0.96 (0.71-1.3; p=0.78) 4 estudis d'alta qualitat
Kreymann et al. 2007 [189]	15	1492 adults	RR 0.79 (0.69-0.90; p<0.0003) Tots RR 0.85 (0.73-0.99; p<0.04) IgG RR 0.66 (0.51-0.84; p<0.0009) IgGAM
	12	710 nounats	RR 0.56 (0.42-0.74; p<0.0001) Tots RR 0.63 (0.42-0.96; p<0.03) IgG RR 0.50 (0.34-0.73; p<0.0003) IgGAM
Turgeon et al. 2007 [190]	20	2621 adults	RR 0.74 (0.62-0.89 p=0.001) Tots
Ohlsson et al. 2010 [199]	10	502 nounats	RR 0.58 (0.58-0.89; p=0.01) 378 sospites d'infecció RR 0.55 (0.31-0.98; p=0.04) 262 infeccions confirmades
Alejandro et al. 2013 [198]	17	1958 adults	RR 0.77 (0.68-0.87) Tots RR 0.81 (0.70-0.93) IGIV RR 0.66 (0.51-0.85) IGIV-IgM enriquida
	8	3831 nounats	RR 0.98 (0.91-1.07) tots RR 1.00 (0.92-1.08) IVIg RR 0.57 (0.31-1.04) IGIV-IgM enriquida

3.7.2. Efectes adversos del tractament amb Immunoglobulines.

La majoria dels efectes adversos de les Igs endovenoses solen ser lleus i transitoris. Els efectes potencialment seriosos, però menys freqüents, que es donen són el fracàs renal agut, la sobrecàrrega de volum, el tromboembolisme i l'anafilaxi. El tractament d'aquestes complicacions passa per fer mesures de suport durant el tractament amb dosis més baixes d'Igs o bé la retirada del tractament. Donat que les Igs deriven del plasma, la possibilitat de la contaminació per agents infecciosos és una possibilitat, tot i que es redueix molt pels múltiples tractaments de purificació química i enzimàtica per inactivar els virus [205].

Taula 17. Efectes adversos associats a l'ús IGIV [123]

Table 2: Adverse effects associated with intravenous immunoglobulin use					
Adverse event	Frequency, %	Risk factors	Mechanism of action	Preventive strategies and treatment	Severity
Flu-like syndrome: flushing, headache, chills, low-grade fever, nausea, malaise, mild hypotension, muscle aches during infusion	1–15	<ul style="list-style-type: none"> Fast infusion rate IgA proportion First infusion of IVIg 	<ul style="list-style-type: none"> Fc receptor-mediated release of prostaglandins, platelet-activating factor and cytokines from leukocytes Aggregation of IgG, leading to complement activation Formation of immune complex 	<ul style="list-style-type: none"> Slow infusion rate Discontinuation of infusion Product brand substitution Premedication with one or more of antipyretic, corticosteroid or antihistamine Subcutaneous infusion 	Mild and transient
Intravascular acute hemolysis during infusion and lasting up to 3 d after infusion	< 0.1	<ul style="list-style-type: none"> High-dose infusion Blood group other than type O Multiparous women Higher titers of anti-A or anti-B IgG antibodies 	<ul style="list-style-type: none"> Passive transfer of antibodies (isohemagglutinins) against antigens of ABO and Rh Underlying inflammatory state 	<ul style="list-style-type: none"> Blood type cross-matching Determination of anti-A and anti-B antibody titer before infusion Post-transfusion testing for hemolysis within 36 h in patients with anemia 	Moderate (should not require transfusion)
Acute aseptic meningitis within 48–72 h after infusion	< 0.1	<ul style="list-style-type: none"> Fast infusion rate History of migraine 	<ul style="list-style-type: none"> Release of inflammatory cytokines Presence of ANCA-like immunoglobulins 	<ul style="list-style-type: none"> Anti-inflammatory agents and pain killers 	Moderate and transient
Arterial or venous thromboembolic event (transient ischemic attack, stroke or peripheral deep thromboembolism) starting within 24 h after infusion	< 0.1	<ul style="list-style-type: none"> First infusion of IVIg Age > 60 yr High dose Previous thrombotic event and thrombophilia Risk factors for cardiovascular events (e.g., dyslipidemia, hypertension, diabetes) Autoimmune disease or cancer 	<ul style="list-style-type: none"> Rheological properties of IVIg leading to hyperviscosity Contamination with clotting factors Vasospasm secondary to release of vasoactive molecules Formation of platelet-leukocyte aggregates 	<ul style="list-style-type: none"> Prophylactic hydration Slow infusion of IVIg Early treatment of high-risk patients Prophylactic anticoagulation 	Moderate to severe
Hypertension and fluid overload during infusion and lasting up to 2 d after infusion	< 1	<ul style="list-style-type: none"> Previous elevated plasma viscosity (e.g., polycythemia, paraproteinemia) Previous heart and kidney failure 	<ul style="list-style-type: none"> Hypergammaglobulinemia and viscosity 	<ul style="list-style-type: none"> Adequate hydration 	Moderate to severe
Acute renal failure (from transient mild alteration in renal function to renal failure requiring dialysis) starting within 1–10 d after infusion	< 1	<ul style="list-style-type: none"> Age > 60 yr Obesity and type 1 diabetes Pre-existing renal disease Sepsis Paraproteinemia Use of nephrotoxic agents 	<ul style="list-style-type: none"> Direct toxicity on proximal renal tubular epithelial cells, osmotic tubular injury secondary to stabilizers used in IVIg preparation (sucrose, maltose, glucose) Cryoglobulin precipitate 	<ul style="list-style-type: none"> Adequate hydration Monitoring of renal function before and after infusion Use of sugar-free stabilizers Avoidance of concomitant nephrotoxic therapy Avoidance in cryoglobulinic-positive patients 	Mild to severe
Non-IgE-mediated anaphylactic reaction (from tightness of throat or chest, chills and rigor to breathlessness, dizziness, fainting or collapse and death) starting early during infusion	< 0.1	<ul style="list-style-type: none"> IgA deficiency (20% related to anti-IgA antibodies, particularly in patients with systemic lupus erythematosus or myasthenia) 	<ul style="list-style-type: none"> Anti-IgA antibodies (IgG isotypes) reacting with IgA in IVIg preparations 	<ul style="list-style-type: none"> Discontinuation of infusion and supportive treatment (intensive care unit) Screening of IgA deficiency in patients before infusion Use of IVIg preparation with lower concentration of IgA 	Moderate to severe
Local reaction to subcutaneous immunoglobulin (swelling, redness, itching or burning sensation)	8–50	<ul style="list-style-type: none"> Initiation of subcutaneous therapy 	<ul style="list-style-type: none"> Local irritant effect 	<ul style="list-style-type: none"> Symptomatic management Monitoring to ensure no long-term changes such as fat necrosis or fibrosis 	Mild to moderate

Note: ANCA = antineutrophil cytoplasmic antibodies, IVIg = intravenous immunoglobulin, SCIg = subcutaneous immunoglobulin.

JUSTIFICACIÓ DE LA TESI

A la introducció prèvia hem destacat l'impacte que encara té la pneumònia en el segle XXI, essent encara una malaltia infecciosa mortal, que en el nostre país condiona 53.000 hospitalitzacions/any amb un cost aproximat de 115 milions d'euros.

També hem documentat com les Igs formen part de la cadena defensiva contra les infeccions del nostre organisme, i com el seu ús exogen, en el cas de dèficit o disfunció, milloren el pronòstic d'algunes malalties.

Es per això, que aquest treball intenta esbrinar quin paper tenen les Igs durant la pneumònia i si és possible el plantejament del seu ús com a tractament a la fase aguda, amb la intenció de modificar la morbi-mortalitat de la PAC.

HIPÒTESI

Els pacients prèviament sans, que pateixen una pneumònia adquirida a la comunitat, tenen a la fase aguda de la malaltia uns nivells d'immunoglobulines més baixos. Aquest descens de les Igs creiem que és major com més greu es la manifestació clínica de la pneumònia. Creiem que tenir uns nivells baixos d'Igs empitjora el pronòstic vital del pacient, incrementant el risc de mortalitat.

La determinació precoç dels nivells d'Igs en els pacients amb pneumònia comunitària, pot ajudar a identificar a aquells que les tenen baixes. Si hipotitzem que els nivells baixos d'Igs condicionen un pitjor pronòstic, aquest pacients es podrien beneficiar d'un tractament substitutiu amb Igs, amb l'objectiu de reduir el risc de mortalitat.

OBJECTIUS

Amb la intenció de respondre a la hipòtesi plantejada definim tres objectius:

- **Objectiu I**

Conèixer si els pacients amb PAC tenen nivells d'Igs més baixos respecte als de la població sana.

- **Objectiu II**

Conèixer si existeix una correlació entre la gravetat de la PAC i els nivells de les Igs en sèrum.

- **Objectiu III**

Conèixer si el dèficit d'Igs suposa pitjor pronòstic de la PAC o són un factor de risc de mortalitat.

MATERIAL I MÈTODES

Estudi prospectiu i observacional realitzat a la comarca del Maresme (Barcelona, España), des del gener del 2001 fins al març del 2012.

- **Criteris d'Inclusió:**

Pacients adults (≥ 14 anys) amb pneumònia adquirida a la comunitat.

- **Criteris d'Exclusió:**

Es van excloure els menors de 14 anys, pacients amb pneumònia secundària a aspiració, tuberculosi activa, pacients institucionalitzats o ingressats durant els 7 dies previs. També es van excloure els pacients amb hipogammaglobulinèmia congènita coneguda, malaltia neoplàsica o hematològica activa, HIV positiu, els pacients que havien rebut tractament amb immunoglobulines endovenoses els tres mesos previs, pacients amb malalties perdedores de proteïnes com enteropaties o síndrome nefròtic, crioglobulinèmia i tractament amb corticoides orals de $>20\text{mg}$ de prednisolona i equivalents al dia.

- **Definició de PAC:**

Infecció del tracte respiratori inferior, amb nova aparició de signes focals a l'examen físic respiratori i noves condensacions suggestives d'infiltrats pneumònics, els quals requerien de tractament antimicrobià. Així com una evolució clínica i radiològica que descartés altres patologies.

Donat que la tesi consta de tres objectius, s'han realitzat tres estudis, cadascun d'ells amb metodologies diferents, que a continuació especificarem:

1. ESTUDI I

1.1. Disseny de l'estudi I

Estudi prospectiu de base poblacional cas-control. Es van seleccionar tots els pacients >14 anys que vivien en una zona de l'àrea del Maresme (població d'uns 74.368 habitants) amb diagnòstic de PAC. Hi estaven implicats els professionals tant de centres d'assistència primària públics com privats, així com els serveis d'urgències dels hospitals de referència (Hospital de Mataró, l'Hospital Germans Trias i Pujol i l'Hospital de Sant Jaume de Calella). Per cada cas, es va reclutar un control sa. Els controls es van seleccionar i randomitzar del cens municipal i es van aparellar per edat (± 5 anys), sexe i lloc de residència.

El protocol d'estudi va ser aprovat pel Comitè Ètic del Consorci Sanitari del Maresme i tots els participants van signar el consentiment informat per la participació a l'estudi.

1.2. Estudi Immunològic estudi I

Les mostres de sang es van obtenir de tots els pacients al moment del diagnòstic de la pneumònia (fase aguda). Es va fer una nova determinació després dels 30 dies de la pneumònia (fase de convalescència). Al cap de dos anys de l'episodi agut, es va fer una nova determinació d'IgG en una petita mostra de pacients. En els controls es van recollir les mostres en el moment de l'entrevista.

Les mostres es van congelar a -80°C fins l'anàlisi. Es van mesurar els nivells d'IgG, IgA i IgM mitjançant la tècnica de nefelometria (Array Protein System; Beckman Instruments, Brea, CA, USA) i les subclasses de IgG mitjançant la tècnica d'assaig immunoenzimàtic.

Donat que els valors normals de les Igs en sèrum i de les subclasses de IgG dels pacients (casos) amb PAC no eren coneguts, per definir “baix nivell d’Igs” es van fer servir els valors més baixos que s’obtenien en els controls. Aquest punts de tall van ser: IgM 30mg/dL, IgA 50mg/dL, IgG 680mg/dL, IgG1 323mg/dL, IgG2 154mg/dL, IgG3 10mg/dL i IgG4 5mg/dL. Hipogammaglobulinèmia es va definir com nivells de IgG<500mg/dL. Aquest valors es van utilitzar tant a la primera mostra de sang que es va prendre (fase aguda) o bé la segona (fase convalescent).

Tant els casos com els controls van signar el consentiment informat per l’obtenció de sèrum sanguini, per anàlisi immunològic i d’altres variables de l’estudi.

1.3. Variables d’estudi de l’estudi I

Les variables d’estudi es van recollir utilitzant un qüestionari de factors relacionats amb la PAC, que va ser facilitat al personal entrenat (metges i infermeres) per fer l’entrevista amb el pacient o els controls. En alguns pacients l’entrevista es va realitzar al final de l’estada hospitalària.

Les variables d’estudi es van classificar en factors pronòstics i resultats clínics. Entre els factors pronòstic es va incloure la necessitat de tractament hospitalari definida per Fine *et al.* [17, annex 1] i es va fer diagnòstic microbiològic (bacterià, viral o els dos).

El diagnòstic microbiològic es va fer mitjançant: hemocultius, cultiu de secrecions (via fibrobroncoscòpia, rentat broncoalveolar o catèter telescopat), cultiu de líquid pleural, i detecció d’antigen en orina de *Legionella pneumophila* i *Streptococcus pneumoniae*. Respecte a l’etiologia vírica, es va basar en l’increment de quatre vegades el títol de IgG per virus respiratoris (virus influenza A i B, virus parainfluenza 1-3, adenovirus, *virus*

respiratori sincitial) i per la *Clamidia psittaci*, *Coxiella burnetti*, *Mycoplasma pneumoniae*, i *Legionella pneumophila*, entre les mostres obtingudes del primer dia i als trenta dies.

Els resultats clínics es van obtenir a través de la revisió de les històries clíniques i inclouen l'estada hospitalària, el temps per tal que desaparegui la simptomatologia clínica, i el temps que el pacient trigava en recuperació completa.

1.4. Anàlisi estadístic estudi I

Primer, varem analitzar els nivells de les Igs en sèrum i les subclasses d'IgG en els casos i els controls, expressats com medianes i percentils entre 5% i 95%. Les diferències entre els casos i controls es van analitzar mitjançant el test de Wilcoxon de les dues mostres aparellades. Segon, es va fer un descriptiu dels pacients amb PAC i nivells baixos d'Igs i subclasses d'IgG, a la fase aguda (en el moment del diagnòstic). L'anàlisi dels pacients amb PAC i nivells baixos d'Ig al diagnòstic es va limitar a la IgG total, la IgG1 i la IgG2 perquè la resta de paràmetres immunològics tenien una freqüència baixa. La relació entre el percentatge de pacients amb nivell d'Igs baixes a la fase aguda i els factors pronòstics així com els resultats clínics es van analitzar amb un Test exacte de Fisher per les variables categòriques i un de test Wilcoxon aparellat o test de Kruskal-Wallis per les variables contínues. Finalment, els pacients es van agrupar, segons el seu estat immunològic a la fase aguda i fase de convalescència, en: "normal-normal", quan els pacients tenien unes concentracions d'Igs dintre dels nivells de normalitat tant a la fase aguda com a la convalescent, "baixos-normals", quan els pacients a la fase aguda tenien valors inferiors als de referència i en fase convalescents ja eren normals, i "baixos-baixos" si tan en fase aguda com convalescent les concentracions d'Igs eren més baixes dels nivells referents.

La relació entre aquest tres tipus de comportament immunològic i l'etiologia de la pneumònia, els factors pronòstics i la resolució clínica, es van analitzar utilitzant els test exacte de Fisher i els de Wilcoxon aparellat o Kruskal-Wallis, segons les necessitats. Es va considerar estadísticament significatiu la $p < 0.05$.

2. Estudi II

2.1. Disseny de l'estudi II

Estudi observacional i transversal on es comparen tres grups de pacients amb PAC, de la comarca del Maresme (Barcelona, Espanya). Les tres poblacions van ser: els tractats a domicili, els que van requerir d'ingrés hospitalari i els que van necessitar de suport a la UCI. Es van incloure de forma consecutiva els pacients ingressat per PAC a la UCI de l'hospital de Mataró, i segons criteri mèdic o del consentiment del pacient, els de l'àmbit hospitalari i domiciliari.

Tots els pacients havien de donar el consentiment per l'obtenció de sèrum sanguini el dia del diagnòstic.

2.2. Estudi Immunològic estudi II

Igual que en el primer estudi, el primer dia de contacte amb el metge i del diagnòstic de la PAC, es va extreure una mostra de sèrum que es congelava a -80°C per determinació posterior dels nivells d'IgG total, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM y IgA mitjançant nefelometria.

Varem considerar com a nivells de referència de la nostra població, els nivells més baixos d'Igs obtinguts del primer estudi.

2.3. Variables d'estudi estudi II

Es van registrar dades demogràfiques (edat i sexe) i dades clíniques definides com l'enolisme, el tabaquisme, la patologia respiratòria crònica, la malaltia cardiovascular crònica, la malaltia neurològica, la *diabetis mellitus*, l'hepatopatia crònica, la insuficiència renal crònica, antecedents de neoplàsia i ús de corticoides (Annex II). També es van registrar dades pronòstiques com el xoc, l'ús de ventilació mecànica o de drogues vasoactives. La mortalitat es va definir als 30 dies. Es va calcular l'escala de CURB65 [16, annex 1] com índex de gravetat, en el primer contracte amb el sistema sanitari.

2.4. Anàlisi estadístic estudi II

Primer es va fer un anàlisi descriptiu dels nivells d'IgG per cada un dels grups (PAC tractada a domicili, PAC amb ingrés hospitalari i PAC que requereix d'UCI), amb dades contínues (mitja \pm DS) i categoritzats segons nivells baixos o no (%), depenent dels punts de tall que s'havien establert en l'estudi previ. Per poder comparar els pacients, vàrem unificar-los en dos grups, un incloïa els pacients tractats a domicili i ingressats a planta no UCI, i l'altre incloïa els pacients ingressats a UCI. Aquesta comparació es va considerar útil, donat que els pacients amb PAC de la UCI són considerats a les guies terapèutiques de les pneumònies com una població especial, per les seves característiques evolutives i tractaments terapèutics diferents.

Segon, es van analitzar els factors associats als nivells baixos d'IgG. La comparació de mitjanes es va fer amb ANOVA o Kruskal-Wallis (3 grups) i t-student o U Mann-whitney (2 grups). La comparació de proporcions amb una Chi-quadrat. Per analitzar la correlació entre variables quantitatives es va utilitzar el coeficient de correlació de Spearman (r_s). Es

va calcular l'efecte de las Ig sobre l'ingrés a UCI mitjançant una regressió logística (OR (95%IC)). Es va fer un anàlisi multivariat ajustant l'efecte de les Ig sobre l'ingrés a UCI, per possibles variables confusores associades tant a Ig com a l'ingrés a UCI. Es va considerar significatiu una $p < 0.05$. Totes les dades es van analitzar i processar pel SPSS versió 11.0.

3. ESTUDI III

3.1. Disseny de l'estudi III

Estudi observacional en pacients amb pneumònia comunitària ingressats a l'hospital de Mataró, amb seguiment fins la mort als 30 dies o dia d'alta hospitalària. El període de reclutament va ser del Gener 2001 al Març 2012. Tots els pacients van rebre el consentiment informat, signat pels pacient o bé per representants legals, abans de la participació. L'estudi va ser aprovat pel Comitè d'ètica del Consorci Sanitari del Maresme.

3.2. Estudi Immunològic estudi III

El principal factor d'estudi van ser els nivells d'Igs a la fase aguda de la PAC. Igual que en el primer i segon estudi, el primer dia de contacte amb el metge i del diagnòstic de la PAC, es va extreure una mostra de sèrum que es congelava a -80°C per determinació posterior dels nivells d'IgG total, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM i IgA mitjançant nefelometria, utilitzant el nefelòmetre IMMAGE[®] 800 i un kit múltiple d'isotips d'immunoglobulines (Beckman Coulter International SA).

3.3. Variables d'estudi estudi III

L'admissió a la UCI i la mortalitat als 30 dies van ser els objectius principals. L'admissió a la UCI va ser d'acord al criteri mèdic, basat a les guies de la IDSA/ATS. Les dades pronòstiques que es van recollir van incloure el xoc sèptic, necessitat de ventilació mecànica (invasiva o no invasiva). La gravetat de la PAC, en el moment de l'ingrés, va ser amb l'escala de CURB [15; Annex 1]. A banda, es van recollir variables demogràfiques i clíniques igual que en l'estudi II.

3.4. Anàlisi estadístic estudi III

Les diferències entre grups respecte a les característiques demogràfiques i clíniques es va analitzar mitjançant el test χ^2 o el test de Fisher per les variables categòriques i el test de U Mann-Whitney o t-test per les variables contínues.

Anàlisi de mortalitat: Per veure l'impacte de les Igs sobre la mortalitat als 30 dies, es van fer dos tipus d'anàlisis estadístics diferents.

Anàlisi A:

- 1) Anàlisi de regressió Cox univariat per avaluar l'associació entre les Igs i el risc de mortalitat. Com que les Igs no tenen una distribució normal (test de Saphiro Wilk), vàrem crear els seus logaritmes, per fer l'anàlisi univariat.
- 2) Anàlisi de regressió Cox univariat per veure quines variables clíniques són factor de risc de mortalitat.
- 3) Busquem el punt de tall de les Igs que són factors de mortalitat, segons l'anàlisi univariat previ. Donat que a la pràctica clínica no treballem amb logaritmes, busquem el valor quantitatiu en mg/dL de les Igs. Per fer això, estratifiquem en percentils [taula 18]. El primer percentil que va mostrar

diferències entre grups (vius i morts) es va considerar com el llinard d'Ig o punt de tall.

- 4) Anàlisi de regressió Cox multivariat per veure els factors que s'associen a mortalitat. El multivariat inclou les variables clíniques significatives ($p < 0.05$) que prèviament s'han analitzat i el percentil d'Ig que és factor de risc de mortalitat.
- 5) Dels factors significatius de l'anàlisi multivariat, es va generar una funció probabilística de mortalitat i es va calcular l'àrea sota la corba (AUROC).
- 6) Es va determinar la probabilitat de morir utilitzant les corbes de Kaplan-Meier i el test log-rank.

Taula 18. Percentils de totes les Igs.

	IgG Total	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA	IgM
Percentil 10	583.20	346.20	127.10	26.00	8.35	105.00	34.00
Percentil 20	683.60	409.80	164.40	34.00	14.56	134.00	49.00
Percentil 30	760.00	474.00	207.30	40.47	19.69	169.00	60.00
Percentil 40	854.40	533.80	251.00	47.92	27.00	209.00	70.20
Percentil 50	956.50	592.00	291.50	55.40	37.05	241.00	80.00
Percentil 60	1076.00	636.00	326.60	65.04	49.16	265.00	91.00
Percentil 70	1170.00	727.80	372.40	74.33	60.69	305.00	110.60
Percentil 80	1320.00	810.60	430.00	91.72	84.36	350.00	132.20
Percentil 90	1580.00	1008.00	532.30	115.00	165.60	437.00	167.20

Anàlisi B:

- 1) Per avaluar l'associació entre els nivells d'Igs i la mortalitat als 30 dies, es van comparar els nivells d'Igs entre els pacients morts i el viu, utilitzant el test U Mann-Whitney (per les Igs de distribució no normal) i el t-test (per les de distribució normal).
- 2) Per les Igs que van mostrar una associació amb la mortalitat, es va fer una corba ROC, i es va identificar el valor de la Ig en mg/dL, amb millor sensibilitat i especificitat per predir mortalitat. Aquest punt de tall òptim és el que s'utilitza a l'estudi univariat i multivariat amb regressió de Cox, per veure l'efecte de les Igs sobre la mortalitat.
- 3) L'anàlisi de Kaplan-Meier i el test log-rank es va utilitzar per veure l'impacte de les Igs sobre la supervivència.

Anàlisi de risc d'ingrés a UCI: es va fer un anàlisi de regressió logística amb el mateix punt de tall de les Igs, per veure la influència en el risc d'ingrés a UCI.

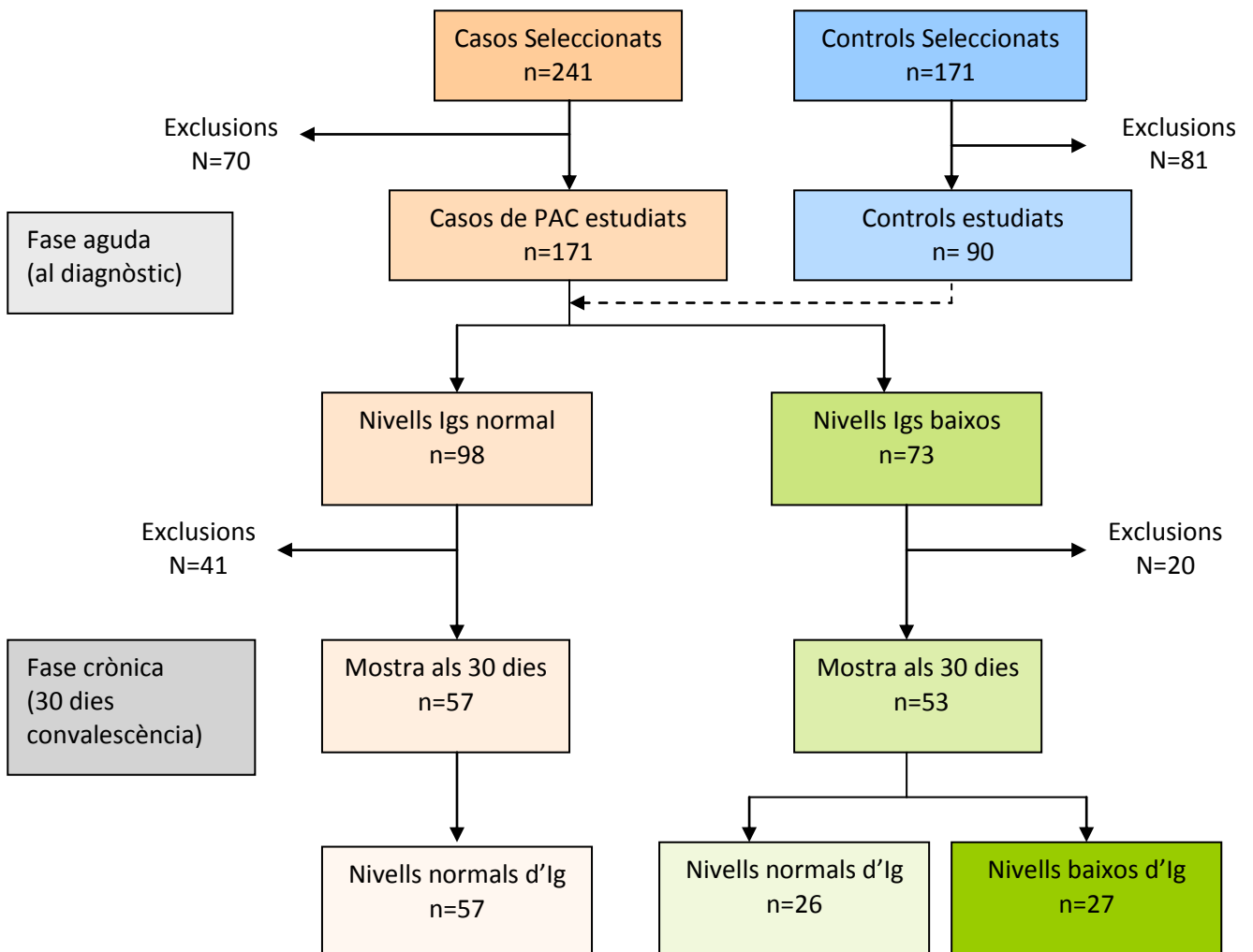
L'anàlisi estadístic es va fer utilitzant el SPSS per versió de Windows 20.0 (IBM-SPSS).

RESULTATS

ESTUDI I

Es van incloure 241 pacients amb diagnòstic de pneumònia comunitària, 140 homes amb una mitja d'edat (\pm DS) de 55 (\pm 21) anys, i 101 dones amb una edat mitja de 51(\pm 21) anys. Es van excloure 70 pacients (29%) per les següents raons: 21 pacients per teràpia immunosupressora, 17 per HIV positiu, 13 per malaltia hepàtica, 5 per neoplàsia o malignitat activa, 6 per mortalitat prèvia a l'extracció de la mostra, 5 per obtenir mostra de sang inviable, i 3 per impossibilitat de contactar amb el pacient després del diagnòstic. En el grup control, es van proposar 171 pacients, dels quals 81 (47.4%) van refusar la participació.

Figura 19. Diagrama de flux de la població d'estudi.



Finalment es van incloure 171 casos (94 homes amb una edat (\pm DS) de 53.8 [\pm 19.6] anys i 77 dones amb una edat de 50.0 [\pm 20.7] anys) i 90 controls (51 homes amb 54.5 [\pm 18.5] anys i 39 dones amb 52.6 [21.0] anys). La distribució dels casos i controls segons al sexe ($p=0.9$) o l'edat ($p=0.6$) no va mostrar diferències significatives. La presència d'una PAC prèvia era de 25 en els casos (14.6%) i de 8 pels controls (8.9%) ($p=0.2$).

Dels 241 pacients, en 160 es va fer estudi etiològic i en 73 (45.6%) es va identificar microorganisme. Varem enregistrar 47 episodis d'infecció bacteriana, 20 d'infecció viral i 6 mixta (bacteriana i vírica). Els patògens més comuns van ser el *Streptococcus pneumoniae* (20 casos) i la *Chlamydia pneumoniae* (15 casos).

Un total de 95 pacients (55.5%) van requerir ingrés hospitalari, amb una mitja (\pm DS) d'estada hospitalària de 11.1 (\pm 9.7) dies. D'aquests pacients ingressats, 12 van requerir ingrés a UCI i d'aquests 3 (25%) van morir. La mitja (\pm DS) de temps en recuperar la seva activitat diària normal va ser de 22.6 (\pm 14.4) dies.

- **Nivells d'Igs en casos i controls**

A la fase aguda, en el moment del diagnòstic de la PAC, els nivells en sèrum de IgG, IgA i subtipus de IgG1 i IgG2, van ser significativament més baixos en els pacients amb PAC (casos) que en els controls, i gairebé significatius ($p<0.05$) per la IgG3 [taula 19].

Dels 171 pacients amb PAC, en 73 (42.7%) es va observar alguna Ig baixa, que en 51 (29.8%) era de IgG total, en 38 (22.2%) de l'IgG2 i de la IgG1 en 19 (11.1%). Nivells baixos de les altres Igs van ser infreqüents. Del total de la població a estudi (casos i controls, $n=163$) es van trobar nivells baixos de IgG total i/o IgG2 en 69 persones (40.3%) i en el

94.5% de tots els pacients amb PAC i nivells baixos d'immunoglobulines. La hipogammaglobulinèmia es va detectar en 18 casos (10.5% de tots els pacients amb PAC).

Taula 19. Comparació dels nivells d'Igs en sèrum en casos i controls.

Igs en sèrum	Controls (n = 90) Mediana (IQR)*	Casos (n = 171) Mediana (IQR)	P	Pacients amb nivells baixos d'Igs. No. (%)
IgA, mg/dL	245 (90–550)	200 (70–440)	0.0007	4 (2.3)
IgM, mg/dL	100 (40–250)	110 (40–300)	0.2	3 (1.7)
IgG total, mg/dL	1120 (810–1560)	820 (440–1440)	< 0.0001[†]	51 (29.8)
IgG1, mg/dL	651 (403–1017)	521.5 (265–932)	< 0.0001	19 (11.1)
IgG2, mg/dL	328.5 (172–560)	240 (76–560)	< 0.0001[†]	38 (22.2)
IgG3, mg/dL	52.5 (19–113)	44.5 (17–104)	0.05	2 (1.7)
IgG4, mg/dL	38 (5–130)	31 (5–137)	-	0

- **Relació dels nivells baixos d'Igs al diagnòstic amb els factors de risc, factors pronòstics i resultats de la PAC.**

En les variables clíniques analitzades (sexe, història d'infeccions dels tractes respiratori superior, bronquitis crònica, asma, prèvia PAC) no es van trobar diferències significatives.

En relació als factors pronòstic de la PAC, els nivells baixos de IgG total eren més freqüents entre els pacients que requerien d'ingrés hospitalari (p=0.01). No es van trobar diferències en quant a temps l'estada hospitalària, ni en dies fins la desaparició de símptomes, ni en dies de retorn a l'activitat normal ni en mortalitat.

Respecte a l'etiologia, es va trobar una relació significativa entre els nivells baixos de IgG total i de IgG2 i la PAC no pneumocòcica (p=0.004 i p=0.008 respectivament).

Taula 20. Ig baixes i factors de risc i de pronòstic de la PAC.

Variables	IgG1		IgG2		Total IgG		Alguna Ig	
	% pacients	P	% pacients	P	% pacients	P	% pacients	P
Factors de risc PAC								
Sexe								
Home, n = 95	11.8	0.8	28.0	0.07	35.1	0.1	48.9	0.09
Dona, n = 77	10.4		15.6		23.4		35.1	
Infecció tracte respiratori superior								
Sí, n = 29	7.7	0.8	23.1	0.8	30.8	1.0	41.0	1.0
No, n = 122	11.6		20.7		29.5		41.8	
Bronquitis crònica								
Sí, n = 34	14.7	0.4	20.6	1.0	35.3	0.5	47.1	0.6
No, n = 127	9.5		21.4		28.4		40.2	
Asma								
Sí, n = 20	15.0	0.5	10.0	0.3	45.0	0.1	50.0	0.5
No, n = 140	10.1		23.0		27.9		40.7	
PAC prèvia								
Sí, n = 25	4.0	0.5	12.0	0.3	24.0	0.6	32.0	0.4
No, n = 136	11.9		23.0		30.9		43.4	
Factors Pronòstics								
Gravetat de la PAC								
Pacients ambulatoris, n = 79	6.4	0.09	19.2	0.5	20.3	0.01	38.0	0.3
Pacients hospitalaris, n = 92	15.2		25.0		38.0		46.7	
Diagnòstic etiològic								
No estudiat, n = 98	13.4	0.9	20.6	0.2	34.7	0.2	42.9	0.2
Bacterià, n = 47	8.5		21.3		27.7		44.7	
Viral, n = 20	10.0		40.0		20.0		50.0	
Mixt, n = 6	0		0		0		0	
PAC per <i>Streptococcus Pneumoniae</i>								
Sí, n=20	10	1.0	0	0.008	10.0	0.004	15.0	0.008
No, n= 151	11.3		25.3		32.5		16.4	
PAC per <i>Chamydia pneumoniae</i>								
Sí, n= 15	0	0.2	26.7	0.7	26.7	1.0	53.3	0.4
No, n= 156	12.3		21.9		30.1		41.7	

- **Canvis de les Igs en fase aguda i convalescent**

Les Igs es van tornar a mesurar 30 dies després de la PAC en 110 (64.3%) dels 171 pacients. Uns 40 pacients van rebutjar una extracció de control o no van venir a la visita control, 18 pacients van tenir una mostra insuficient o invalida per analitzar-la i 3 pacients van morir a la UCI.

Es van considerar tres grups en relació als resultats en la determinació immunològica a la fase aguda i a la de convalescència: “normal-normal”, “baix-normal” i “baix-baix”. Es va analitzar el comportament per la IgG Total o alguna subclasse, la progressió per la IgG total, per la IgG2 i per la IgG1.

Els resultats es mostren a la Figura 19. En la progressió de la IgG total o algun subtipus, el 57 pacients (51.8%) van tenir uns nivells normals tant a la fase aguda com a la de convalescència, 26 (23.6%) pacients van passar de nivells baixos (fase aguda) a normals (convalescència), i 27 (24.5%) van continuar amb nivells baixos als 30 dies de la convalescència. El percentatge de pacients amb hipogammaglobulinèmia a la fase aguda era de 10.5% i a la convalescent de 3.6%.

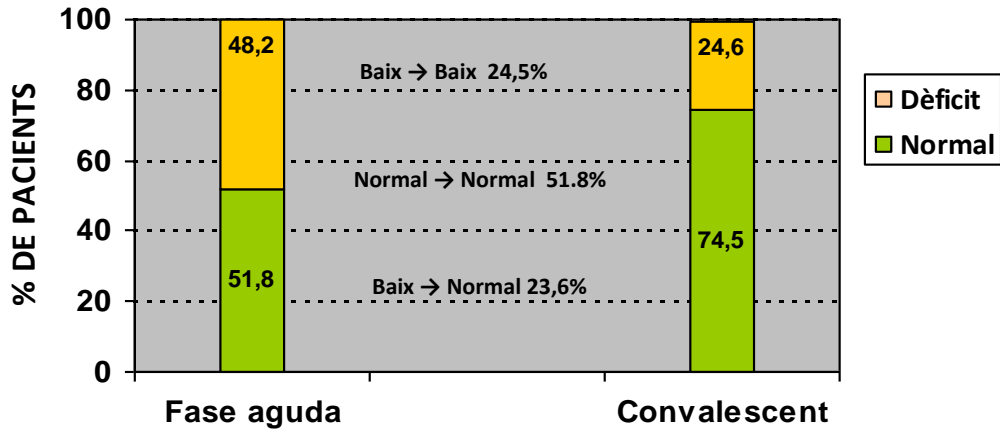
Pel grup IgG total, dels pacients amb nivells baixos a la fase aguda (51 pacients, el 34.5%) un 16.3% persistien baixos al mes , i es van normalitzar en valors de IgG total en 18.2% pacients.

En el cas de la IgG2, dels pacients amb IgG2 baixa a la fase aguda (26.6%) van progressar a nivells normals el 15.6% i van persistir baixos en un 11%.

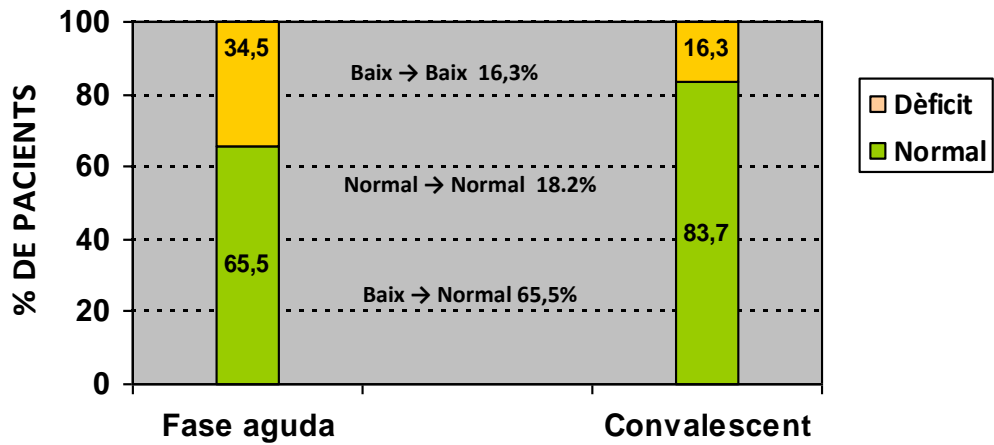
En el cas de la IgG1, un 11.9% la tenien baixa a la fase aguda, i recuperen a valors normals un 6.4% i continuen baixos en un 5.5% dels pacients.

Figura 20. Progressió dels nivells de IgG i subclasses en 110 pacients amb PAC, de la fase aguda a la fase de convalescència.

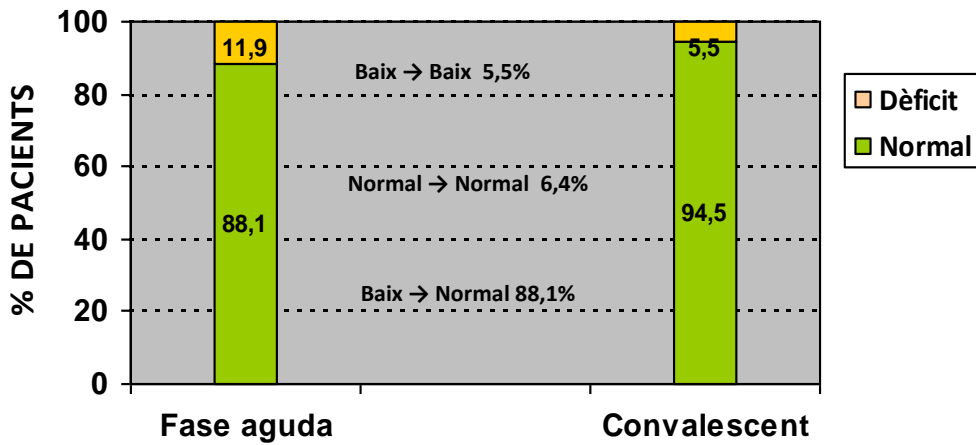
a. Progressió IgG total o alguna subclasse



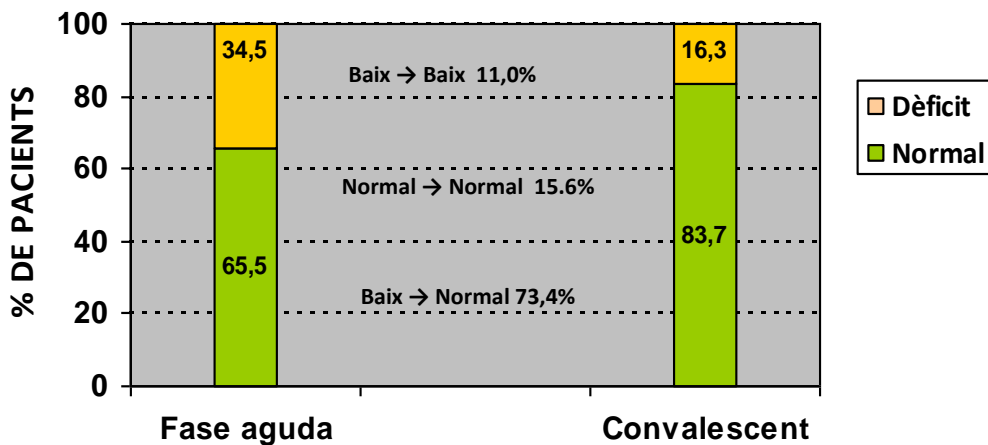
b. Progressió de la IgG total



c. Progressió de la IgG1



d. Progressió de la IgG2



Als dos anys de la fase aguda, es van analitzar les Igs d'una mostra de 16 pacients. Respecte a la IgG total, 13 pacients van presentar nivells baixos a la fase aguda i al cap de dos anys 12 pacients ja tenien nivells normals (92.3%). Respecte a la IgG1, 6 pacients van presentar nivells baixos a la fase aguda i als dos anys el 66.7% ja tenien valors normals. I respecte a la IgG2, a la fase aguda 8 pacients tenien nivells baixos i als dos anys 6 pacients (75%) havien recuperat fins valors normals.

Taula 21. Valors de la IgG total, IgG1 i IgG2 (en mg/dL) en fase aguda i al cap de dos anys.

	Fase Aguda			Post-2 anys		
	IgG Total	IgG1	IgG2	IgG Total	IgG1	IgG2
Pacient 1	450	347	210	680	376	181
Pacient 2	410	180	161	760	200	376
Pacient 3	620	596	91	900	521	97
Pacient 4	144	956	290	1750	1321	223
Pacient 5	400	262	195	520	369	330
Pacient 6	490	282	200	420	266	208
Pacient 7	136	932	208	1440	976	388
Pacient 8	520	341	105	860	393	294
Pacient 9	580	555	105	920	314	249
Pacient 10	490	360	200	740	325	161
Pacient 11	480	324	78	820	399	330
Pacient 12	440	192	103	780	405	337
Pacient 13	510	239	220	970	261	403
Pacient 14	440	450	59	690	464	82
Pacient 15	900	661	52	950	609	144
Pacient 16	420	297	144	740	362	304

Figura 21. IgG total en fase aguda i al cap de dos anys.

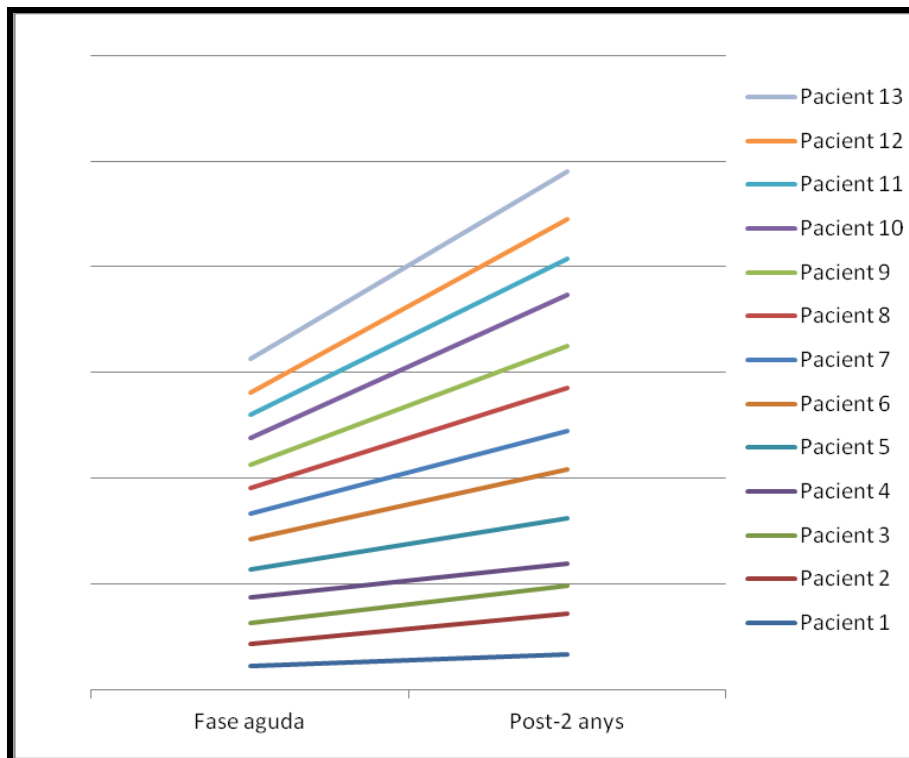


Figura 22. IgG1 en fase aguda i al cap de dos anys.

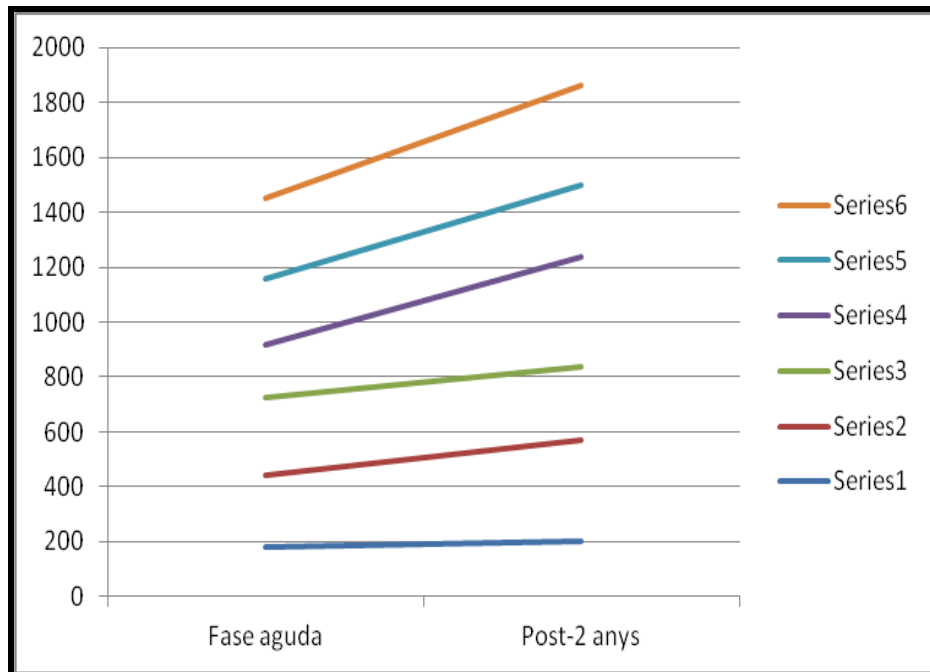
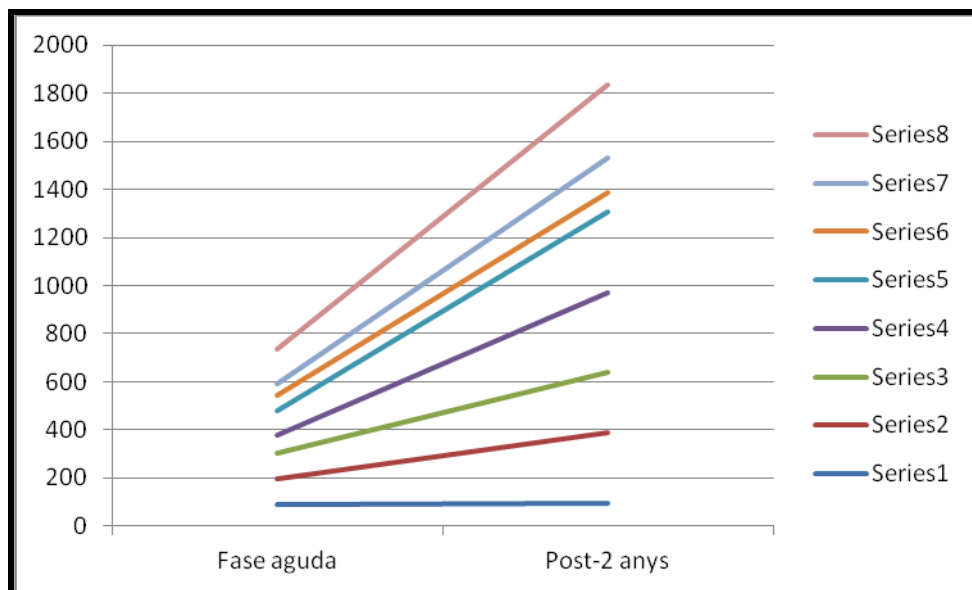


Figura 23. IgG2 en fase aguda i al cap de dos anys.



- **Relació dels nivells baixos d'Igs a la fase de convalsència amb els factors pronòstics i resultats de la PAC.**

En relació als factors pronòstics, el percentatge de pacients amb nivells encara baixos de IgG2 ($p=0.01$) i d'alguna immunoglobulina ($p=0.009$) era significativament més baix en aquells amb PAC d'etiologia pneumocòcica o per *Chlamydia pneumoniae*. No es va trobar relació els nivells d'Igs persistentment baixos amb altres complicacions o resultats clínics, ni amb cap factor de risc de PAC.

Taula 22. Relació entre els canvis d'Ig en fase aguda i convallescent i els factors de risc i pronòstics de la PAC.

Variables	IgG1				IgG2				IgG Total				Alguna immunoglobulina			
	Percentatge de pacients		P		Percentatge of patients		P		Percentage de patients		P		Percentatge de pacients		P	
	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix	Normal-normal	Baix-baix
Factors de risc																
Sexe																
Home, n = 60	86.2	9.2	4.6	6.8	69.2	20.0	10.8	11.4	21.2	19.7	19.7	25.8	25.8	25.8	22.7	0.7
Dona, n = 44	90.9	2.3	6.8	6.8	79.6	9.1	11.4	11.4	13.6	11.4	11.4	20.5	20.5	22.7	0.3	0.3
Història infecció del tracte respiratori superior																
Sí, n = 25	96.0	0	4.0	6.2	80.0	8.0	12.0	8.6	72.0	16.0	16.0	8.0	8.0	28.0	0.07	0.6
No, n = 82	85.2	8.6	6.2	6.2	72.8	18.5	8.6	8.6	63.4	20.7	15.9	29.3	29.3	22.0	0.6	0.6
Bronquitis																
Sí, n = 26	84.6	7.7	7.7	5.0	76.9	15.4	7.7	10.0	61.5	23.1	15.4	30.8	30.8	19.2	0.7	0.8
No, n = 81	88.8	6.3	5.0	5.0	73.8	16.3	10.0	10.0	66.7	17.3	16.1	22.2	22.2	24.7	0.8	0.8
Asma																
Sí, n = 15	86.7	13.3	0	6.6	93.3	6.7	0	11.0	53.3	40.0	6.7	46.7	46.7	6.7	0.06	0.2
No, n = 91	87.9	5.5	6.6	6.7	71.4	17.6	11.0	11.0	67.4	15.2	17.0	20.7	20.7	26.1	0.08	0.08
PAC prèvia																
Yes, n = 17	94.1	5.9	0	6.7	88.2	5.9	5.9	10.1	70.6	23.5	5.9	23.5	23.5	11.8	0.5	0.5
No, n = 89	86.5	6.7	6.7	6.7	71.9	18.0	10.1	10.1	64.4	17.8	17.8	24.4	24.4	25.6	0.5	0.5
Factors pronòstics																
Gravetat de la PAC																
Pacient ambulatori, n = 52	92.2	2.0	5.9	5.2	74.5	11.8	13.7	8.6	75.0	11.5	13.5	21.2	21.2	25.0	0.8	0.4
Pacient hospitalari, n = 58	84.5	10.3	5.2	5.2	72.4	19.0	8.6	8.6	56.9	24.1	19.0	25.9	25.9	24.1	0.1	0.1
Diagnostic etiològic																
No estudiat, n = 60	86.4	5.1	8.5	3.0	71.2	11.9	17.0	3.0	56.7	23.3	20.0	26.7	26.7	28.3	0.5	0.3
Bacterià, n = 33	87.9	9.1	3.0	0	75.8	21.2	3.0	8.3	69.7	12.1	18.2	21.2	21.2	24.2	0.3	0.3
Viral, n = 12	91.7	8.3	0	0	66.7	25.0	8.3	0	83.3	16.7	0	25.0	25.0	16.7	0.3	0.3
Mixte viral i bacterià, n = 5	100	0	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>																
Sí, n = 19	89.5	5.3	5.3	5.6	100	0	0	13.3	89.5	5.3	5.3	5.3	5.3	10.5	0.009	0.08
No, n = 91	87.8	6.7	5.6	5.6	67.8	18.9	13.3	13.3	60.4	20.9	18.7	27.5	27.5	27.5	0.08	0.08
<i>Chlamydia pneumoniae</i>																
Sí, n = 8	100	0	0	5.9	62.5	37.5	0	11.9	62.5	37.5	0	62.5	62.5	0	0.2	0.2
No, n = 102	87.1	6.9	5.9	5.9	74.3	13.9	11.9	11.9	65.7	16.7	17.7	20.6	20.6	26.5	0.2	0.2

ESTUDI II

Seguint els criteris d'inclusió i exclusió, prèviament definits, i com factor imprescindible la disponibilitat de sèrum el primer dia del diagnòstic de la PAC, es va reclutar una mostra de 54 pacients amb PAC de l'àmbit ambulatori, 173 de l'àmbit hospitalari i 191 de la UCI. L'anàlisi descriptiu dels tres grups es presenta a la *taula 23*. Per buscar diferències significatives entre poblacions de pacients, es van agrupar els pacients ambulatoris i hospitalaris, anomenant a aquest grup "pacients no UCI" i es van comparar amb els pacients de UCI, tal i com mostrem a la *taula 24*.

Taula 23. Descriptiu de les tres poblacions a estudi.

VARIABLES	ABS (54)	HOSPITAL (173)	UCI (191)	P
Sexe-Home (%)	42 (77.8)	112 (64.7)	136 (71.2)	0.146
Edat (SD)	51.1 (18.8)	71.1 (15.6)	60.1 (17.4)	<0.001
Consum d'alcohol (%)	7 (14)	8 (4.8)	30 (15.7)	0.003
Consum de tabac (%)	14 (28)	27(16.1)	67 (35.1)	<0.001
Patologia respiratòria (%)	12 (24)	100 (59.2)	73 (38.2)	<0.001
Cardiopatia (%)	6 (12)	76 (45)	42 (22)	<0.001
<i>Diabetis Mellitus</i> (%)	2 (4)	41(24.3)	44 (23)	0.06
Malaltia Neurològica (%)	5 (10)	29 (17.2)	19 (9.9)	0.101
Malaltia renal crònica (%)	1 (2)	8 (4.7)	7 (3.7)	0.663
Neoplàsia sòlida (%)	1 (2)	10 (5.9)	4 (2.1)	0.125
Antibiòtic previ (%)	6 (11.3)	28 (16.3)	11 (5.8)	0.006
Corticoides orals (%)	5 (10)	30 (17.8)	8 (4.2)	<0.001
Dies símptomes previs (±DS)	7.6 (5.6)	4.5 (5.3)	3.5 (2.9)	<0.001
Dies estada Hospital (±DS)	0	8.2	18.5 (15.3)	<0.001
Suport ventilatori (%)				
No VMK	54 (100)	162 (97)	1 (5)	<0.001
VMK	0	5 (3)	14 (7.3)	<0.001
MAC	0	0	55 (28.8)	<0.001
VMNI	0	0	32 (16.8)	<0.001
VM	0	0	89 (46.6)	<0.001
Xoc (%)	-	-	88 (46.1)	<0.001
Èxitus (%)	-	5 (2.9)	43 (22.5)	<0.001

Taula 24. Descriptiu de dues poblacions (no UCI-UCI).

VARIABLES	NO UCI (227)	UCI (191)	P
Sexe-Home (%)	154 (67.8)	136 (71.2)	0.5
Edat (DS)	66.3 (18.5)	60.1 (17.4)	<0.001
Consum d'alcohol (%)	15 (6.9)	30 (15.7)	0.004
Consum de Tabac (%)	41 (18.8)	67 (35.1)	<0.001
Patologia respiratòria (%)	112 (51.1)	73 (38.2)	0.009
Patologia Cardíaca (%)	82 (37.4)	42 (22)	0.001
<i>Diabetis Mellitus</i> (%)	43(19.6)	44 (23)	0.4
Malaltia Neurològica (%)	34 (15.5)	19 (9.9)	0.1
Malaltia renal crònica (%)	9 (4.1)	7 (3.7)	0.8
Neoplàsia sòlida (%)	11 (5.0)	4 (2.1)	0.1
Antibiòtic previ (%)	34 (15.1)	11 (5.8)	0.002
Corticoides orals (%)	35 (16.0)	8 (4.2)	<0.001
Dies símptomes previs (\pm DS)	5 (5.5)	3.5 (2.9)	0.07
Dies estada Hospital (\pm DS)	6.2 (5.9)	18.5 (15.3)	<0.001
Xoc (%)	-	88 (46.1)	<0.001
Èxitus (%)	5 (2.2)	43 (22.5)	<0.001

Hem de destacar, que els pacients que ingressen a la UCI són més joves, i són més consumidors de tabac i alcohol que els pacients no UCI. Els pacients no UCI tenen més patologia crònica (respiratòria i cardíaca) i tenen un major percentatge de pacients que consumeixen corticoides orals o que ja prenen antibiòtic abans de la pneumònia, respecte al grup UCI. El xoc i el suport amb ventilació mecànica i ventilació no invasiva, només està present en el grup de pacients de UCI. Els pacients de la UCI tenen estades més perllongades i es moren més.

Respecte a les variables quantitatives, tal i com la pràctica clínica ens mostra, els pacients de UCI estan més taquicàrdics, taquipnèics, hipotensos i desaturen més, de forma significativa. A nivell analític els pacients de la UCI tenen major PCR, urea i menor hemoglobina, però no van presentar diferències significatives respecte a la leucocitosis [Taula 25].

Taula 25. Anàlisi descriptiu de variables quantitatives, en el grup no UCI vs UCI.

VARIABLES	No UCI	UCI	P
Freqüència cardíaca (±DS)	93.17 (17.4)	105.99	<0.001
Freqüència respiratòria (±DS)	25.18 (7.6)	30.55	<0.001
Tensió Arterial Sistòlica (±DS)	134.08 (24.4)	110.9	<0.001
Tensió Arterial Diastòlica (±DS)	73.12 (13.7)	63.68	<0.001
Saturació (±DS)	90.88 (6.0)	86.04	<0.001
PCR (±DS)	13.94 (13.2)	30.18	<0.001
Hemoglobina (±DS)	13.1(2.0)	12.9	<0.001
Leucòcits (±DS)	12975.8 (6132.3)	14373	0.086
Urea (±DS)	25.14 (26.4)	76.37	<0.001

Quan analitzem l'etiologia microbiològica de la pneumònia, s'aconsegueix un aïllament de microorganisme en el 69.6% dels pacients amb PAC a la UCI, però només en el 10.4% dels hospitalitzats i en el 5.4% en els ambulatoris. El microorganisme més prevalent en els tres grups va ser l'*Streptococcus pneumoniae*.

Taula 26. Etiologia de les tres poblacions.

MICROORGANISME	ABS (54)	HOSPITAL (173)	UCI (191)
No identificat (%)	51 (94.4)	155 (89.6)	58 (30.4)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (5.6)	13 (7.5)	69 (36.1)
<i>Legionella pneumophyla</i>	-	5 (2.9)	17 (8.9)
H1N1	-	-	15 (7.9)
Virus	-	-	11 (5.8)
Enterobacteris	-	-	6 (3.1)
<i>Pseudomonas spp.</i>	-	-	6 (3.1)
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	-	2 (1)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	2 (1)
Fongs	-	-	1 (0.5)

- **Nivells d'Igs en sèrum**

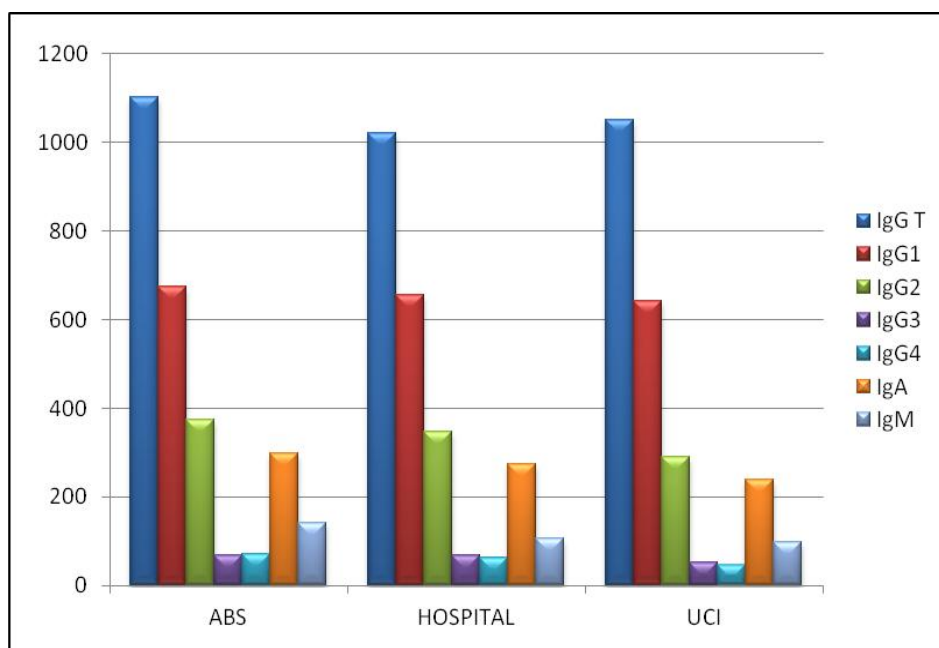
Podem destacar que els valors quantitius de les Igs van tenir un comportament descendent a major gravetat. Les concentracions en sèrum de totes les Igs, excepte la IgG total, van ser majors en els pacients ambulatoris que en els hospitalitzats, i les d'aquest últims majors que les de la UCI [taula 27]. En l'estratificació per grups (no UCI

vs UCI), es va evidenciar un descens significatiu dels nivells d'IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 i IgA per tots els pacients del grup UCI respecte al grup no UCI [taula 28].

Taula 27. Nivells sèrics d'Igs de les tres poblacions de pacients amb PAC.

Inmunoglobulina	ABS n=54	PLANTA n=173	UCI n=191	P
IgG total mg/dL (±DS)	1102.41(±321.7)	1021.22(±342.5)	1051.13(±646.6)	0.035
IgG1 mg/dl (±DS)	674.94(±223.2)	656.6(±256.0)	640.81(±368.1)	0.009
IgG2 mg/dl (±DS)	375.52(±179.9)	345.89(±187.9)	291.46(±165.4)	<0.001
IgG3 mg/dl (±DS)	67.87(±38.6)	67.32(±33.8)	52.25(±33.4)	<0.001
IgG4 mg/dl (±DS)	71.06(±65.9)	61.58(±64.6)	45.07(±48.5)	0.001
IgA mg/dl (±DS)	296.8(±401.9)	272.96(±132.4)	238.83(±138.1)	0.018
IgM mg/dl (±DS)	139.74(±157.1)	106.84(±139.2)	98.45(±81.9)	0.032

Figura 24. Nivells sèrics d'Igs de les tres poblacions de pacients amb PAC.

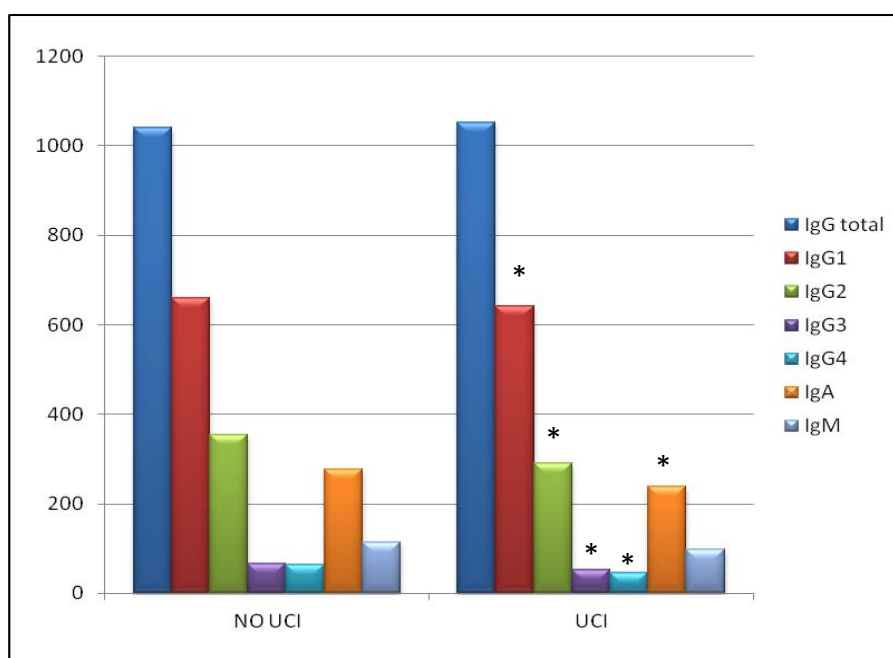


Taula 28. Nivells sèrics d'Igs de les dues poblacions de pacients (UCI vs no UCI).

Inmunoglobulina	NO UCI n= 227	UCI n=191	P (UCI vs No UCI)
IgG total mg/dL (±DS)	1040.6 (±338.7)	1051.1(±646.6)	0.081
IgG1 mg/dl (±DS)	661.0 (±255.3)	640.8(±368.1)	0.005
IgG2 mg/dl (±DS)	353.0 (±186.0)	291.5(±165.4)	<0.001
IgG3 mg/dl (±DS)	67.5 (±34.9)	52.3(±33.4)	<0.001
IgG4 mg/dl (±DS)	63.9 (±64.9)	45.1(±48.5)	0.001
IgA mg/dl (±DS)	278.4 (±223.9)	238.8(±138.1)	0.008
IgM mg/dl (±DS)	114.4 (±143.8)	98.5(±81.08)	0.705

Figura 25. Nivells sèrics d'Igs de les dues poblacions de pacients (UCI vs no UCI).

*Significació estadística (p<0.05)



La correlació entre els nivells d'Igs i els dies de clínica prèvia al diagnòstic mèdic de la PAC, mostra que els pacients amb PAC que no necessitaven suport a UCI, tenien una correlació positiva i significativa entre els nivells de IgG2 i els dies de clínica prèvia ($r_s=0.145$; $p=0.035$). En canvi, en els pacients de UCI, hi ha una correlació negativa entre els nivells de IgG total ($r_s= -0.216$; $p=0.003$), IgG1 ($r_s= -0.201$; $p=0.005$) i IgG2 ($r_s=-0.175$;

p=0.016) i els dies de símptomes previs. Aquesta tendència a la correlació negativa també es presenta per IgG3 però no de forma significativa. Es a dir, pels pacients que no van necessitar UCI, a més dies de clínica prèvia els valors de la IgG2 eren majors. En canvi pels pacients de la UCI, a més dies de clínica prèvia menys IgG, menys IgG1 i menys IgG2 tenien en el moment del diagnòstic.

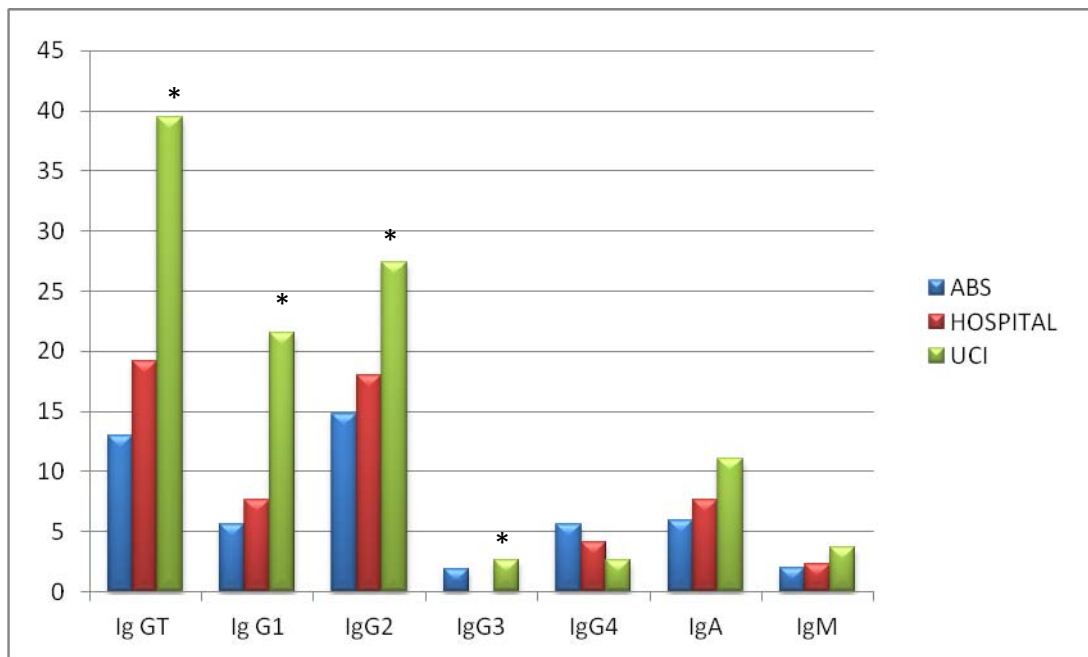
- **Nivells baixos d'immunoglobulines**

Es van categoritzar les Igs com deficientes o no, segons els valors de referència. Es va fer una comparació dels tres grups de pacients amb PAC i dèficit d'Igs [taula 29]. Es va veure que el percentatge de pacients amb nivells baixos d'IgG total, IgG1 i IgG2 era major, de forma significativa, en els pacients ingressats a UCI, respecte als altres dos grups. Entre els pacients ingressats a planta hospitalària i els de tractament ambulatori, no hi va haver diferències significatives respecte al dèficit d'Igs. Per tant, els nivells baixos d'Igs només és relacionava amb els pacients ingressats a UCI.

Taula 29. Nivells baixos d'Igs segons el grups de pacients amb PAC

Nivells d'Igs	ABS n=54	HOSPITAL n= 173	UCI n=191	P
IgGtotal ≤ 680mg/dL	7 (13%)	33 (19.2%)	75 (39.5%)	<0.001
IgG1 ≤ 323mg/dL	3 (5.6%)	13 (7.6%)	41 (21.5%)	<0.001
IgG2 ≤ 154mg/dL	8 (14.8%)	31 (18%)	52 (27.4%)	<0.04
IgG3 ≤ 10mg/dL	1 (1.9%)	0	5 (2.6%)	0.108
IgG4 ≤ 5mg/dL	3 (5.6%)	7 (4.1%)	5 (2.6%)	0.544
IgM ≤ 50mg/dL	1 (2.0%)	4 (2.3%)	7 (3.7%)	0.683
IgA ≤ 30mg/dL	3 (5.9%)	13 (7.6%)	21 (11.1%)	0.366

Figura 26. Nivells baixos d'Igs segons els grups de pacients amb PAC.



*Significació estadística ($p < 0.05$)

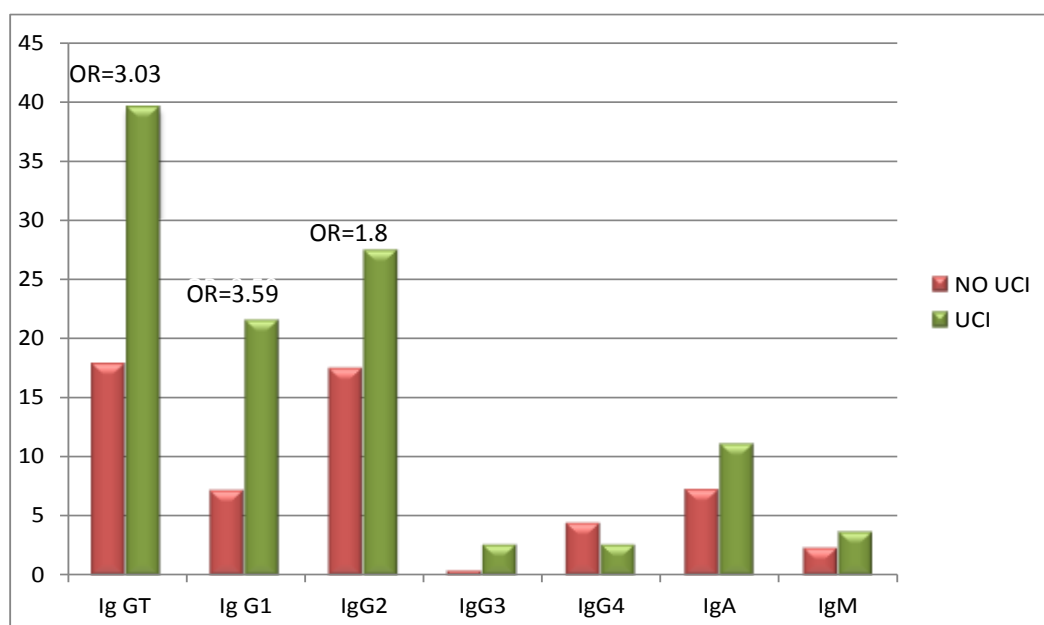
De la mateixa manera, es va fer una comparació dels nivells baixos d'Igs entre el grup "no UCI" i el grup "UCI" [taula 30]. El percentatge de pacients amb nivell baix d'IgG total, IgG1 i IgG2 era major, de forma significativa en els pacients de UCI respecte als "no UCI".

Quan analitzem el risc d'ingrés a UCI, trobem que tenir una IgG total $< 680 \text{ mg/dL}$ incrementa tres vegades (OR 3.03) el risc. Pel nivells baix d'IgG1 el risc és de 3.59 vegades més i per la IgG2 $< 154 \text{ mg/dL}$ de 1.8 vegades. Hi ha una tendència a que la IgG3 baixa sigui més freqüent en els pacients de UCI, però no de forma significativa.

Taula 30. Nivells baixos d'Igs segons els dos grups de pacients amb PAC (no UCI vs UCI).

Dèficit d'Ig	NO UCI n=173	UCI n=191	P	OR (IC 65%)
IgGtotal ≤ 680mg/dL	40 (17.7%)	75 (39.5%)	<0.001	3.03 (1.94-4.75)
Ig G1 ≤ 323mg/dL	16 (7.1%)	41 (21.5%)	<0.001	3.59 (1.94-6.63)
Ig G2 ≤ 154mg/dL	39 (17.3%)	52 (27.4%)	<0.013	1.8 (1.13-2.89)
Ig G3 ≤ 10mg/dL	1 (0.4%)	5 (2.6%)	0.098	6.05 (0.7-52.2)
Ig G4 ≤ 5mg/dL	10 (4.4%)	5 (2.6%)	0.328	0.58 (0.2-1.74)
Ig M ≤ 50mg/dL	5 (2.3%)	7 (3.7%)	0.389	1.60 (0.81-3.17)
Ig A ≤ 30mg/dL	16 (7.2)	21 (11.1%)	0.173	1.66 (0.52-5.32)

Figura 27. Nivells baixos d'Igs segons els dos grups de pacients amb PAC (no UCI vs UCI).



- **Factors de Gravetat**

A major puntuació de l'escala de gravetat CURB65 major mortalitat. Els pacients de major CURB65 (puntuació 5 i 4) van ingressar tots a la UCI. Existeix una associació

significativa entre els nivells baixos de IgG total i IgG1 i major puntuació del CURB65 [Taula 31].

Taula 31. Associació entre els nivells baixos d'Igs i score CURB65.

Nivells d'Igs	CURB-65 score de Gravetat						P
	0 (n = 71)	1 (n = 137)	2 (n = 124)	3 (n = 68)	4 (n = 14)	5 (n = 4)	
IgG T ≤ 680mg/dL	14 (19.7)	29 (21.2)	36 (29.0)	28 (41.2)	5 (35.7)	3 (75)	0.005
IgG1 ≤ 323mg/dL	6 (8.5)	11 (8)	17 (13.7)	18 (26.5)	3 (21.4)	2 (50)	0.001
IgG2 ≤ 154mg/dL	11 (15.5)	30 (21.9)	22 (17.7)	23 (33.8)	4 (28.6)	1 (25)	0.113
IgG3 ≤ 10mg/dL	1 (1.4)	2 (1.5)	2 (1.6)	1 (1.5)	0	0	0.998
IgG4 ≤ 5mg/dL	5 (7)	2 (1.5)	6 (4.8)	2 (3)	0	0	0.353
IgA ≤ 50mg/dL	2 (2.8)	4 (2.9)	2 (1.6)	3 (4.4)	1 (7.1)	0	0.820
IgM ≤ 30mg/dL	4 (5.6)	9 (6.6)	12 (9.7)	10 (14.7)	2 (14.3)	0	0.331

- **Nivells baixos d'Igs i risc d'ingrés a UCI**

Varem fer un anàlisi multivariat (taula 32) ajustat pel CURB65 i per les comorbiditats (patologia respiratòria crònica i cardiopatia crònica) , per conèixer si els nivells baixos d'Igs eren factor de risc d'ingressar a UCI.

A l'anàlisi multivariat veiem com els nivells baixos d'IgG total s'associen de forma independent a ingrés a UCI (OR 2.45 [IC95%=1.4-4.2; p=0.002]).

Taula 32. Anàlisi multivariat dels factors de risc d'ingrés a UCI.

VARIABLE	OR	IC 95%	P
IgG total<680mg/dL	2.45	1.4-4.2	0.002
CURB65	4.62	3.33-6.4	<0.001
Cardiopatia	0.221	0.12-0.4	<0.001
Broncopatia	0.296	0.17-0.51	<0.001

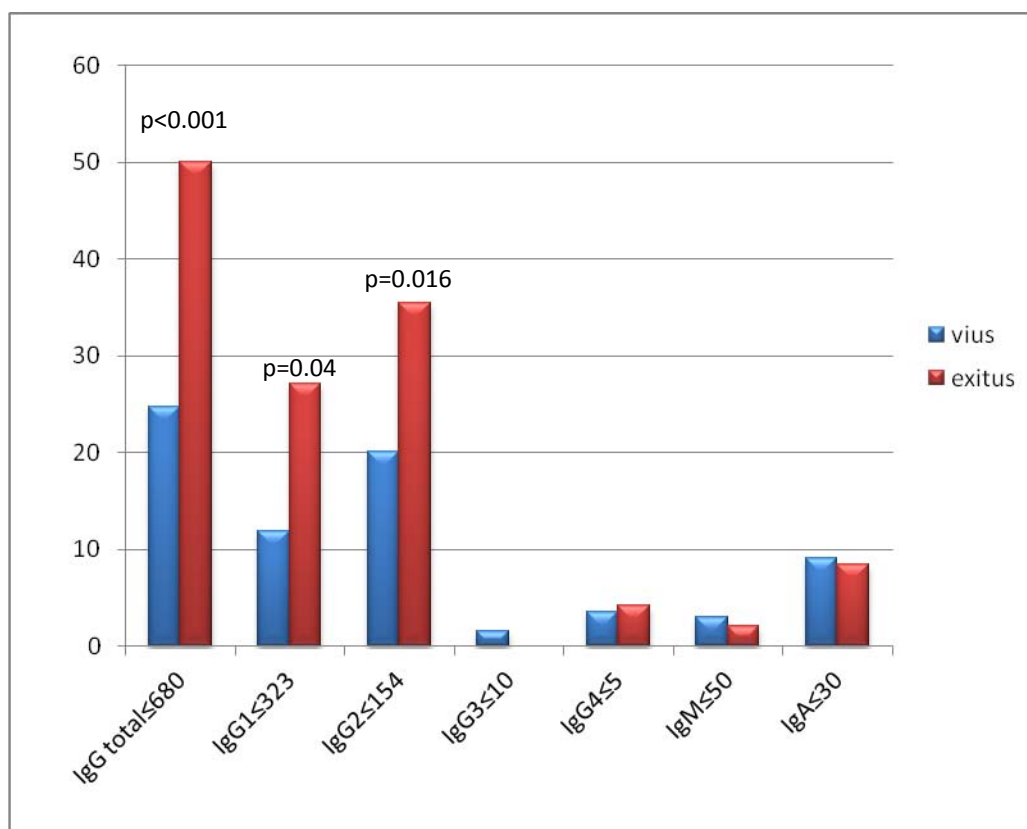
- **Mortalitat**

Del total de 418 pacients, 48 pacients (11.5%) van ser èxits. En relació a l'escala de gravetat CURB65, els pacients amb una puntuació de 5 presentaren una mortalitat del 100%, els de 4 del 28.6%, els de 3 del 20.6%, els de 2 del 18.7% i els de 1 del 2.2%. Els factors independents associats a mortalitat van ser: l'ingrés a l'hospital, l'ingrés a UCI, el xoc, la ventilació mecànica, els CURB65 i tenir uns nivells baixos de IgG total, IgG1 i IgG2 [Taula 33; figura 28].

Taula 33. Factors de risc de mortalitat.

VARIABLE	VIUS (370)	EXITUS (48)	P
Ingrés hospitalari	316	48	0.005
Ingrés a UCI	148	43	<0.001
Ventilació mecànica	66	39	<0.001
CURB65			
0	72 (100%)	-	<0.001
1	134 (97.8%)	3 (2.2%)	<0.001
2	100 (81.3%)	23 (18.7%)	<0.001
3	54 (79.4%)	14 (20.6%)	<0.001
4	10 (71.4%)	4 (28.6%)	<0.001
5	-	4 (100%)	<0.001
Xoc (%)	53	35	<0.001
Dèficit d'Igs			
IgG total (≤ 680)	24 (8%)	24 (20.9%)	<0.001
IgG1 (≤ 323)	35 (9.7%)	13 (22.8%)	0.004
IgG2 (≤ 154)	31 (9.5%)	17 (18.7%)	0.016
IgG3 (≤ 10)	48 (11.7%)	-	0.4
IgG4 (≤ 5)	46 (11.5%)	2 (13.3%)	0.8
IgM (≤ 50)	47 (11.8%)	1 (8.3%)	0.7
IgA (≤ 30)	43 (11.5%)	4 (10.8%)	0.9

Figura 28. Comparació entre els pacients vius i morts i els nivells baixos d'Igs.



ESTUDI III

Utilitzant els mateix grup de pacients amb PAC de l'estudi anterior, es van incloure un total de 362 pacients: 172 amb PAC tractats a planta convencional i 190 pacient tractats a UCI. Respecte a l'estudi previ es van excloure dos malalts (1 per grup) per la detecció posterior, en la revisió de la història clínica, d'una immunodeficiència. Les característiques basals es mostren a la *taula 34*. Els pacients de la UCI són més joves, i tant l'hàbit tabàquic com d'alcohol són més freqüents respecte al grup de planta. En canvi, hi ha menys pacients amb patologia crònica (cardíaca, respiratòria i neurològica), que són més prevalents en els pacients de planta, els quals també prenem més corticoides orals de forma crònica. Destacar que tots els pacients amb xoc

i suport ventilatori (invasiu o no invasiu) es van ingressar a UCI. La mortalitat va ser clarament més elevada en els pacients de UCI, un 20% vs un 1.7% de planta.

Taula 34. Anàlisi descriptiu dels dos grups de pacients hospitalitzats amb PAC, els pacients de ingressats a planta i els ingressats a UCI.

Variabls	Pacients planta (n=172)	Pacients UCI (n=190)	P
Pacients homes (%)	111 (64.5)	135 (71.1)	0.184
Edat, en anys, mitja (SD)	71.1 (15.7)	60.1 (17.5)	<0.001
Consum d'alcohol (%)	8 (4.8)	29 (15.3)	0.001
Consum de tabac (%)	27 (16.1)	67 (35.3)	<0.001
Malaltia respiratòria crònica (%)	99 (58.6)	73 (38.4)	<0.001
Malaltia cardíaca crònica (%)	76 (45.0)	41 (21.6)	<0.001
<i>Diabetis mellitus</i> (%)	41 (24.3)	44 (23.2)	0.806
Malaltia neurològica crònica (%)	29 (17.2)	19 (10.0)	0.047
Insuficiència renal crònica (%)	8 (4.7)	7 (3.7)	0.620
Neoplàsia prèvia (%)	10 (5.9)	4 (2.1)	0.063
Corticoides orals (%)	30 (17.8)	8 (4.2)	<0.001
Dies símptomes previs, mitja (DS)	4.5 (5.3)	3.5 (3.0)	0.819
Ventilació no invasiva (%)	0	39 (20.5)	<0.001
Ventilació invasiva (%)	0	104 (54.7)	<0.001
Xoc (%)	0	87 (45.8)	<0.001
Èxitus (%)	3 (1.7)	38 (20.0)	<0.001

- **Nivells d'Immunoglobulines**

Analitzem els nivells, en mg/dL, d'Igs en els pacients amb PAC hospitalitzats, i comparem els dos grups (planta vs UCI). De forma significativa, observem que els nivells de IgG1, IgG2, IgG3 i IgA són més baixos en els pacients amb PAC que requereixen d'ingrés a UCI [taula 35].

Taula 35. Comparació dels nivells d'Igs dels pacients amb PAC d'ingrés a planta vs ingrés a UCI.

Immunoglobulines, mg/dL, mitja (DS)	Pacients planta (n=172)	Pacients UCI (n=190)	P
IgG total	1022.37 (343.2)	1049.02 (647.6)	0.239
IgG1	658.46 (264.7)	639.55 (368.6)	0.016
IgG2	344.86 (188.0)	289.82 (164.2)	0.001
IgG3	67.11 (33.76)	58.24 (40.5)	0.001
IgG4	61.87 (64.7)	53.76 (62.9)	0.067
IgM	273.63 (132.5)	237.73 (137.6)	0.667
IgA	107.23 (139.5)	97.46 (80.1)	0.012

Figura 29. Nivells d'Igs dels pacients amb PAC de planta convencional comparat amb els pacients amb PAC ingressats a UCI.



- **Immunoglobulines i risc de Mortalitat als 30 dies.**

Analitzem els nivells d'Igs en els pacients vius i els que moren als 30 dies [taula 36].

Troblem que els nivells d'IgG2 són, de forma estadísticament significativa, més baixos en els pacients que es moren que en els vius. Al contrari dels nivells d'IgA que són més elevats en els pacients que es moren.

Taula 36. Comparació dels nivells d'Igs entre vius i morts.

Igs en serum, mg/dL, mitja (SD)	Vius (n=321)	Morts (n=38)	P
IgG total	1028.35 (513.5)	1098.71 (610.4)	0.900
IgG1	635.20 (299.4)	752.39 (461.8)	0.377
IgG2	322.01 (175.1)	268.90 (193.2)	0.004
IgG3	64.18 (35.8)	62.60 (12.4)	0.480
IgG4	59.79 (63.9)	53.72 (67.5)	0.312
IgM	102.32 (117.5)	100.20 (54.2)	0.159
IgA	249.40 (131.4)	296.07 (165.3)	0.039

Donat que la única Ig que presenta un descens significatiu és la IgG2, centrem el nostre estudi en aquest subtipus.

Tal i com s'ha explicat a l'apartat de materials i metodologia, fem dues anàlisis estadístiques diferents per veure l'impacte de les Igs sobre la mortalitat. Seguidament exposarem els resultats segons les dues metodologies emprades, tot i que les conclusions són molt similars.

- Resultats segons l'anàlisi A:

A l'anàlisi de regressió de Cox univariat, per cada una de les Igs (valors logaritmitzats), la única que s'associa a mortalitat als 30 dies és la IgG2 (HR [CI 95%], p: 0.23 [0.07-0.71], 0.011). Taula 37.

Taula 37. Anàlisi de mortalitat amb regressió de Cox univariat de cada logaritme de les Igs.

Logaritmes de les Ig	OR	IC (75%)	p
IgG Total_log	1.02	0.18 - 5.64	0.979
IgG1_log	2.65	0.54 - 12.91	0.228
IgG2_log	0.23	0.07 - 0.71	0.011
IgG3_log	0.52	0.11 - 2.56	0.422
IgG4_log	0.68	0.30 - 1.55	0.362
IgA_log	2.94	0.81 - 10.62	0.100
IgM_log	1.25	0.48 - 3.27	0.645

Fem un anàlisi univariant de regressió Cox amb les diferents variables clíniques: edat, sexe, consum d'alcohol, consum de tabac, malaltia crònica respiratòria, malaltia crònica cardíaca, malaltia neurològica crònica, insuficiència renal crònica, neoplàsia antiga, corticoides orals, ventilació mecànica no invasiva durant el procés de la PAC, ventilació invasiva durant el procés de la PAC, presència de xoc i escala de CURB a l'ingrés. Només les variables d'antecedent de neoplàsia, necessitat de ventilació mecànica invasiva, xoc i CURB es van associar al risc de mortalitat. [taula 38].

Taula 38. Anàlisi univariada dels factors de risc de mortalitat.

Variàbles	OR	IC (75%)	p
Sexe	0.585	(0.279-1.225)	0.155
Edat	1.005	(0.987-1.023)	0.593
Consum d'alcohol	1.545	(0.650-3.674)	0.325
Consum de tabac	0.782	(0.373-1.638)	0.514
Antibiòtic previ	1.152	(0.450-2.936)	0.767
Malaltia respiratòria crònica	0.841	(0.454-1.558)	0.581
Malaltia cardíaca crònica	0.743	(0.372-1.483)	0.400
<i>Diabetis mellitus</i>	1.350	(0.689-2.646)	0.382
Malaltia neurològica crònica	1.659	(0.766-3.592)	0.199
Insuficiència renal crònica	1.199	(0.289-4.964)	0.803
Neoplàsia prèvia	3.139	(1.119-8.809)	0.030
Corticoides orals	1.192	(0.468-3.038)	0.713
Ventilació no invasiva	1.759	(0.78-3.968)	0.174
Ventilació invasiva	14.010	(6.207-31.683)	<0.001
Xoc	11.756	(5.759-24.001)	<0.001
CURB	2.437	(1.855-3.203)	<0.001
Antibiòtic empíric incorrecte	2.468	0.595-10.238	0.213

Tal i com s'ha comentat a la metodologia, busquem el percentil de la IgG2 que s'associa a mortalitat. Els pacients amb valors d'IgG2 inferiors al percentil 60 tenien major mortalitat. Aquest valor correspon a $IgG2 < 326 \text{ mg/dL}$ [taula 39]

Taula 39. Anàlisi per buscar el punt de tall de la IgG2 que s'associa a mortalitat als 30 dies.

Percentils IgG2	HR	IC 75%	p
P10 (<127mg/dL)	1.605	(0.733-3.514)	0.237
P20(<164mg/dL)	1.519	(0.796-2.900)	0.205
P30(<207mg/dL)	1.384	(0.740-2.588)	0.309
P40(<251mg/dL)	1.813	(0.972-3.382)	0.061
P50(<291mg/dL)	3.331	(1.583-7.009)	0.002
P60(<326mg/dL)	2.918	(1.285-6.625)	0.011
P70(<372mg/dL)	2.391	(0.993-5.755)	0.052
P80(<430mg/dL)	0.833	(0.345-2.007)	0.603

Finalment fem un anàlisi de regressió de Cox multivariat amb les variables clíniques significatives i amb els nivells d'IgG2<326mg/dL (p60). El multivariat mostra que tenir uns nivells de IgG2<326mg/dL condiona un major risc de mortalitat [taula 40].

Taula 40. Anàlisi multivariat de factors de risc de mortalitat als 30 dies.

	CI 95%	p
Antecedent de neoplàsia	6.06 [1.97 - 18.64]	0.002
Ventilació mecànica invasiva	4.93 [1.92 - 12.70]	0.001
Xoc sèptic	3.14 [1.34 - 7.37]	0.009
CURB	1.46 [1.04 - 2.06]	0.029
IgG2 < p60 (<326 mg/dl)	2.92 [1.29 - 6.63]	0.011

L'AUC d'aquest multivariat va mostrar que és un bon test diagnòstic de supervivència (area (CI 95%,p: 0.796 (0.73-0.86) <0.001) (figura 30). I la corba de

Kaplan-Meier va evidenciar que els pacients amb $IgG2 < 326 \text{ mg/dL}$ ($p60$) morien abans que els que tenien majors valors [figura 31].

Figura 30. Àrea sota la corba del model multivariat.

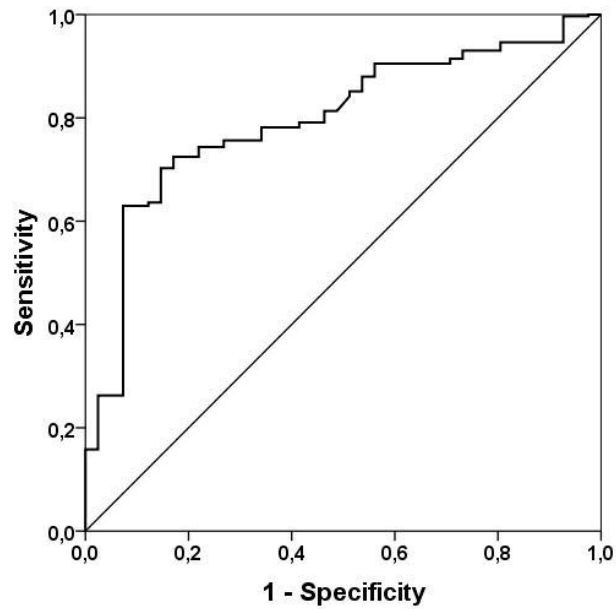
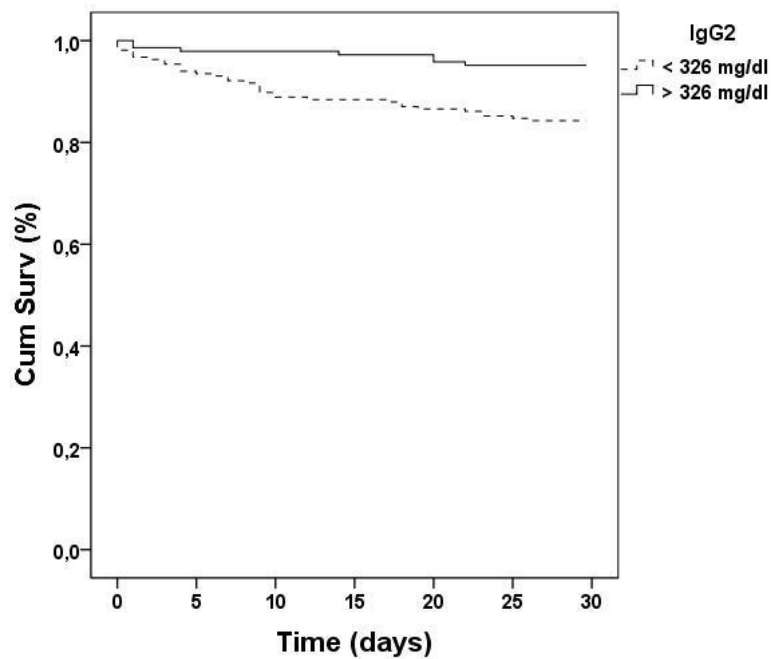


Figura 31. Corba de Kaplan-Meier. Supervivència de dos grups, segons tinguin una $IgG2 < 326 \text{ mg/dL}$ o major. El temps es va censurar als 30 dies. Cum Surv indica supervivència acumulada.



○ Resultats segons Anàlisi B:

La diferència amb el primer anàlisi radica com busquem el punt de tall de la IgG2.

En aquest segon anàlisi, busquem no per percentils, sinó pel valor d'IgG2 en mg/dL que tingui la major sensibilitat i major especificitat (Anexe 3).

El valor d'IgG2 que té major sensibilitat i especificitat, per la mortalitat als 30 dies, és la IgG2 301mg/dL.

Igual que els resultats del primer anàlisi, els factors de risc segons l'univariat per la mortalitat als 30 dies, van ser la neoplàsia, la ventilació invasiva, el xoc sèptic, el CURB i la IgG2, però amb un punt de tall de IgG2<301mg/dL.

Taula 41. Anàlisi univariat dels factors de risc de mortalitat.

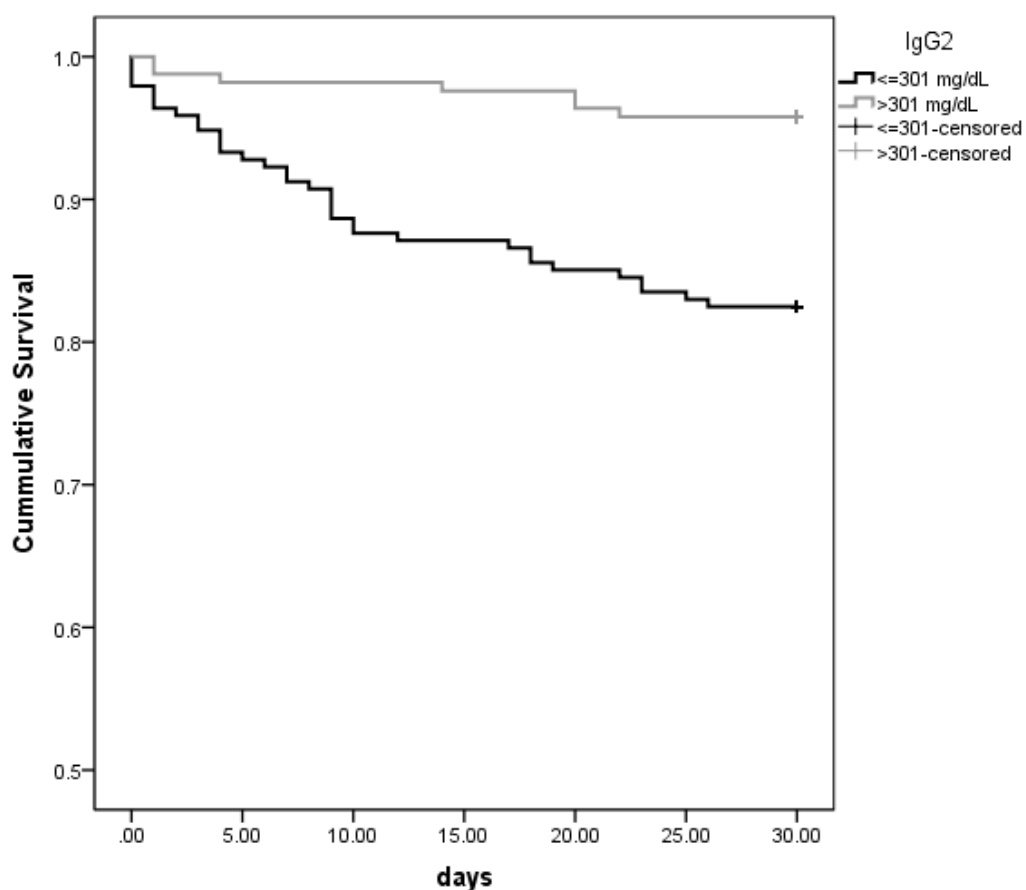
	HR (CI 95%)	P
Sexe – Home	0.585 [0.28-1.22]	0.155
Edat	1.005 [0.99-1.02]	0.593
Antibiòtic previ	1.152 [0.45-2.94]	0.767
Consum d'alcohol	1.545 [0.65-3.67]	0.325
Consum de tabac	0.782 [0.37-1.64]	0.514
Malaltia respiratòria crònica	0.841 [0.45-1.56]	0.581
Malaltia cardíaca crònica	0.743 [0.37-1.48]	0.400
<i>Diabetis mellitus</i>	1.350 [0.69-2.64]	0.382
Malaltia neurològica crònica	1.659 [0.77-3.59]	0.199
Insuficiència renal crònica	1.19[0.29-4.96]	0.803
Antecedents de neoplàsia sòlida	3.139 [1.12-8.81]	0.030
Corticosteroides orals	1.19 [0.47-3.04]	0.713
Ventilació no invasiva	1.759 [0.78-3.97]	0.174
Ventilació invasiva	14.010[6.21-31.62]	<0.001
Xoc Sèptic	11.756 [5.76-24.00]	<0.001
CURB	2.437 [1.85-3.20]	<0.001
IgG2 <301 mg/dL	4.470 [1.98-10.08]	<0.001

A l'anàlisi multivariat, la IgG2 va continuar sent un factor de risc independent de mortalitat al 30 dies, condicionant un risc de 3.5 vegades més en el cas de tenir-la amb nivells inferiors de 301mg/dL [taula 42].

Taula 42. Anàlisi multivariat dels factors de risc de mortalitat als 30 dies.

	HR (CI 95%)	P
Antecedents de neoplàsia	6.08 [1.97 - 18.72]	0.002
Ventilació Mecànica Invasiva	5.09 [1.97 - 13.15]	0.001
Xoc Sèptic	3.14 [1.14 - 6.66]	0.024
CURB	1.49 [1.08 - 2.11]	0.022
IgG2 <301 mg/dL	3.48 [1.53 - 7.89]	0.003

Figura 32. Corba de Kaplan-Meier (Anàlisi B). Supervivència de dos grups, segons tinguin una IgG2 <301mg/dL o major. El temps es va censurar als 30 dies.



- **Risc d'ingrés a UCI**

Es van comparar els pacients tractats a planta amb els de la UCI. Ja hem comentat, que els pacients de UCI eren més joves, i tenien menys prevalença de patologia cardíaca, respiratòria i neurològica [Taula 34]. Respecte a les Igs, els pacients de la UCI van tenir

uns nivells de IgG1, IgG2, IgG3 i IgA més baixos que els de la no UCI, de forma significativa [taula 35].

A l'anàlisi multivariat que es va fer, la IgG2<301mg/dL es va definir com un factor de risc d'ingrés a UCI (OR=0.14; p=0.002), independentment de l'edat, el sexe, el consum d'alcohol i tabac, de la malaltia respiratòria crònica, de la malaltia cardíaca crònica i del consum de corticoides orals [taula 43].

Taula 43. Anàlisi multivariat de factors de risc associats a ingrés a UCI.

	OR (CI 95%)	P
Sexe, masculí	1.65 [0.98-2.78]	0.061
Edat	0.98 [0.96-0.99]	0.007
Consum d'alcohol	2.60 [1.03-6.60]	0.044
Consum de tabac	1.22 [0.63-2.34]	0.558
Malaltia respiratòria crònica	0.60 [0.37-0.99]	0.048
Malaltia cardíaca crònica	0.51 [0.30-0.87]	0.013
Corticosteroides orals	0.37 [0.15-0.90]	0.029
IgG2 <301 mg/dL	2.14 [1.33-3.43]	0.002

DISCUSSIÓ

Aquest treball ha volgut aprofundir en el comportament de les Igs en els pacients que afectes de PAC, valorant si els seus nivells estan relacionats amb la gravetat de la infecció, o amb la mortalitat de la PAC.

- **Quin és el nivell òptim d'Igs?**

Els pulmons es defensen dels microorganismes mitjançant tres mecanismes: la barrera física, el sistema immunitari innat i el sistema immunitari adaptatiu o humoral. Tot i que actualment coneixem molt millor el funcionament de la immunitat humoral encara tenim moltes llacunes de coneixement. Respecte de les immunoglobulines, un dels principals interrogants és que no sabem quins són els nivells d'Igs necessaris per aconseguir una protecció infalible contra les infeccions.

Els laboratoris immunològics, en base a diferents estudis, tenen uns límits inferiors i superiors de concentració d'Igs que defineixen quan tenim una hipogammaglobulinèmia o una hipergammaglobulinèmia. Aquests nivells s'han establert en base a una població amb unes característiques pròpies, ètniques i ambiental concretes, que no són sempre extrapolables al nostre àmbit [206]. A més, la sensibilitat de les tècniques utilitzades per a la determinació dels valors sèrics de les Igs i l'especificitat dels anticossos utilitzats, són factors que també contribueixen a la variabilitat dels valors sèrics de referència [207]. Sabem, i ho hem comentat a la introducció d'aquesta tesi, que hi ha variabilitat en els nivells d'Igs segons l'edat, el sexe, la raça, el consum d'alcohol i tabac, i fins i tot el dejú.

En el nostre primer estudi, hem prioritzat la determinació dels nivells normals d'Igs a la població sana, per tal de poder fer una comparació posterior amb la població de malalts amb PAC. Per tal de minimitzar la influència d'altres factors, la població control

era de la mateixa zona geogràfica que la població amb PAC i es van aparellar per edat i sexe.

Hi ha pocs treballs on es faci una comparativa dels nivells d'Igs de la població sana i de la població amb pneumònia. Herer et al [208] publica al 1990, un estudi on mesura els nivells de subclasses d'IgG en 38 pacients prèviament sans (24 homes i 13 dones, amb una mitjana d'edat de 49 ± 20.4 anys) ingressats per pneumònia i els compara amb 26 pacients sans (13 homes i 13 dones, amb mitjana d'edat de 45 ± 23.9 anys). Els dos grups no diferien ni en edat ni en sexe ni en història tabàquica. Com posteriorment comentarem, va trobar diferències significatives en els nivells d'Igs entre grups, essent inferiors en el grup amb pneumònia. Ekdahl et al [209], va comparar 39 pacients amb història de pneumònies recurrents (>3 episodis) amb 36 pacients sans, i troba que hi ha un dèficit d'alguna Ig en 36% dels pacients (14 pacients), concretament en 8 pacients el dèficit és de IgG o IgG2. Tot i això, tots els pacients amb dèficit van tenir altres factors que predisposaven a la pneumònia. Posteriorment, va comparar la resposta immunològica provocada per la vacuna del pneumococ, entre els pacient amb PAC recurrent i els controls vacunats, i va veure que el grup de PAC recurrent tenia pitjor resposta immunològica.

La majoria de treballs, ja siguin en l'àmbit de la pneumònia o bé en la sèpsia, no determinen els nivells d'Igs en població sana, sinó que directament treballen amb poblacions amb patologia, i fan la comparativa amb nivells d'Igs predeterminats segons uns valors de referència arbitraris, i diferents segons els grups de treball.

En definitiva, atesa la variabilitat exposada en els nivells d'Igs en diferents poblacions, ens ha semblat necessari primer quantificar els nivells d'Igs en una població control, i aquest és un dels punts forts a destacar del nostre treball.

- **Nivells de les Igs en els pacients amb PAC en fase aguda i de convalescència.**

El nostre estudi de base poblacional, mostra que els nivells d'Igs en els pacients amb pneumònia adquirida a la comunitat, que prèviament estaven sans, són més baixos que els nivells d'Igs dels pacients controls, amb una prevalença del 42.7% [210, Annex 4].

En aquest 42.7% de pacients amb Igs baixes, la principal Ig afectada era la IgG total (29.8% dels casos), seguida de la IgG2 (22.2% dels casos) i la IgG1 (11.1% dels casos). A més en un 10.5% dels pacients els nivells d'IgG van ser inferiors a 500mg/dL (valor que coneixem com hipogammaglobulinèmia). Els nivells baixos d'Igs van persistir en la fase de convalescència en un 24.5% dels pacients, i dels pacients amb hipogammaglobulinèmia (IgG<500mg/dL), en un 3.6% dels casos va persistir en la fase convalescent. Aquests resultats són similars als trobats per Herer et al [208], que va evidenciar un descens significatiu de la concentració de IgG2 en els pacients amb PAC de causa bacteriana o desconeguda (n=38) respecte als pacients sans (n=26). No va trobar diferències ni en el nivells d'IgA ni de IgM. A més aquest descens persistia en la fase de convalescència, ja que va continuar amb nivells baixos tan en la recuperació del la pneumònia com als 9 mesos, essent aquest un aspecte diferent al nostre estudi, on un 80% dels pacients van recuperar els nivells d'IgG al mes de la PAC.

Un any més tard, Hukuhara *et al* [211] mesuren els nivells de les subclasses de IgG en 100 pacients adults sans i en 64 pacients amb infeccions respiratòries, entre el quals n'hi havia 18 amb pneumònia bacteriana aguda. Els nivells de IgG1, IgG2 i IgG4 eren significativament més baixos en el grup d'infecció respiratòria respecte del grup de població sana, en canvi la IgG3 s'incrementava també de forma significativa. A la fase

de convalescència, la IgG2 va continuar baixa en el grup de pacients amb pneumònia, però no en les altres subclasses.

Més recentment, Gordon et al [212] van demostrar un descens d'IgG2 en les infeccions greus causades per l'H1N1 (19 pacients). En aquesta cohort hi ha 9 casos d'embarassades i es comparen amb 17 controls (embarassades sanes), confirmant que les dones amb H1N1 tenien nivells significativament més baixos d'IgG total, IgG1 i IgG2. Posteriorment, el mateixos autors, van comparar el grup de PAC per H1N1 amb un altre amb PAC no-influenza (68 pacients), evidenciant que en tots dos grups hi havia descens d'IgG, IgG1 i IgG2, tot i que amb diferències significatives, essent més baixos els nivells en les PAC per H1N1 [213].

Com ja hem comentat, en els treballs amb pacients sèptics, la prevalença de nivells baixos d'IgG el dia del diagnòstic de la sèpsia és elevada, fins un 70% [149]. La baixada de les Igs podria ser deguda a un consum provocat per la cascada inflamatòria que activa la pròpia infecció, tal com suggereix en els seu treball Hukuhara *et al.* [211] o bé a una resposta inflamatòria limitada respecte de la producció d'anticossos en front la infecció [214]. Tot i que l'estudi de Taccone *et al* [142] està fet amb pacients sèptics (només 4 pacients tenen PAC, dels 21 totals), és dels pocs treballs que intenta mesurar, a nivells biològic, el comportament de les Igs durant la sèpsia. Per una banda, mesura la vida mitjana de la IgG i la producció de cadenes Kappa (K) i lambda (λ) els dos primers dies de la sèpsia, i per una altra, mesura l'índex de vasodilatació o fragilitat capil·lar. Hem d'aclarir que un augment del les cadenes K i λ es considera un marcador de síntesi d'Igs. En aquest mateix estudi, si comparem els nivells de K i λ del grup amb IgG baixes i amb IgG normals, no observem diferències, del que se'n conclou que els nivells baixos d'IgG no són deguts a un dèficit en la síntesi. L'augment de la

permeabilitat capil·lar, comporta una pèrdua de proteïnes, i l'estat catabòlic de l'organisme en situació de sèpsia impossibilita la producció d'IgG, per tant aquest dos fets condicione una disminució de les concentracions d'IgG [215,216]. I el ràpid descens de la IgG en la sèpsia també podria explicar-se per l'efecte de consum de la reacció Ag-Ac [214]. A més, les IgM i IgG circulants actuen com a neutralitzadores d'endotoxina, consumint Ig i reduint les concentracions [218,220].

En el segon estudi d'aquesta tesi, detectem que els pacients de la UCI, consulten al metge abans que els que no presenten un pneumònia greu, però tenen uns nivells més baixos d'IgG2, i destaquem que com més temps es triga en diagnosticar la pneumònia més baixes són les concentracions d'IgG2, però no vàrem poder esbrinar-ne la causa.

Tot i aquestes teories de consum o bloqueig, no podem oblidar que tant en el nostre estudi com en els anteriorment comentats, els pacients que es diagnostiquen de pneumònia o sèpsia, s'han considerat sans, però desconeixem els seus nivells d'IgG previs a la infecció. Tot i que hem establert uns criteris d'inclusió estrictes amb la intenció de poder descartar tots aquells pacients amb malalties que condicionen un descens de les Ig, ja sigui per pèrdua (malalties perdedores de proteïnes, síndrome nefròtica, cirrosi establerta i descompensada), per manca de producció (immunodeficiències congènites, HIV, agents immunosupressors) o bé per anormalitat en la producció (mieloma múltiple), és inevitable que alguns dels pacients amb PAC tinguin una immunodeficiència, congènita o adquirida, no identificada prèviament a l'episodi de la PAC, en els quals hauriem de considerar que el descens de les Igs n'és una causa i no pas una conseqüència. En aquest sentit, la valoració de la capacitat de producció d'AcS en front a antígens específics, en pacients amb nivells d'IgG persistentment baixos després d'un episodi de PAC, podria ajudar a confirmar un

possible defecte immunològic [221]. En el nostre estudi hem fet una nova determinació d'Igs, en una petita mostra de pacients, al cap de dos anys de l'episodi de pneumònia, temps que s'ha considerant suficient com per retornar a l'estat immunològic basal. Els resultats confirmen que la majoria de pacients, 92.3% per la IgG total, 66.7% per la IgG1 i 75% per la IgG2, han retornat a valors normals. Davant d'aquest resultat considerem que és la PAC la causa del descens de les Igs a la fase aguda i que és clarament reversible en el temps.

- **Etiologia de la PAC i Igs**

En el nostre treball no hem observat una associació clara entre les Igs i l'etiologia de la pneumònia. En el primer estudi, on comparavem la població sana amb la població amb PAC, es va arribar a un diagnòstic etiològic en un 45.6% dels casos (73 pacients). La PAC bacteriana es va presentar en 47 casos, essent el microorganisme més prevalent l'*Streptococcus pneumoniae* (15 casos). Quan es va avaluar la relació entre les Ig i els factors pronòstics, els nivells baixos d'IgG i IgG2 van ser significativament més freqüents en pacients amb pneumònia d'una etiologia diferent a l'*Streptococcus pneumoniae* ($p=0.04$ i $p=0.008$, respectivament).

Aquest comportament, de presentar un major descens d'IgG2 en les pneumònies causades per altres agents diferents a l'*Streptococcus pneumoniae*, ja havia estat publicat per Gordon et al [212,213], on les pneumònies virals causades per l'*Influenza H1N1* eren les que presentaven major descens d'IgG Total ($p<0.03$), IgG1 ($p<0.025$) i IgG2 ($p<0.011$) en comparació amb el grup de pneumònies no virals. Tot i aquests resultats, Chan et al [222] posa en dubte l'associació de la IgG2 i la infecció viral, ja que el possible paper de la IgG2 en la infecció per *Influenza* pot ser degut a la

coïnfecció bacteriana, que freqüentment s'hi associa, sobretot en els casos greus. En el seu treball constaten una major incidència de coïnfecció en els casos greus respecte dels no greus (21.2% vs 5.6%) però sense significació estadística. En l'anàlisi del subgrup de pacients amb coïnfecció, la IgG2 mostrava nivells més baixos que en el subgrup de pacients en què la infecció era produïda per un sol microorganisme, però sense significació estadística.

En el nostre segon estudi, on es comparaven les Igs segons la gravetat de la pneumònia, el diagnòstic etiològic va ser possible només en un 5.4% dels casos ambulatoris, un 10.4% dels hospitalaris i en un 69.6% dels de la UCI. En aquest darrer grup és on vàrem buscar una possible relació entre l'agent etiològic i els nivells d'Igs, però nosaltres no vam trobar diferències significatives dels nivells d'IgG2 i l'etiologia viral.

En la bibliografia tampoc hi ha un consens clar entre la relació del deficit d'Igs i l'agent causal. Tot i que hi ha una evidència clara respecte a que la funció primària de la IgG2 està dirigida a controlar els Ags polisacàrids, protegint així, fonamentalment contra els bacteris encapsulats com l'*Streptococcus pneumoniae* i l' *Haemophilus influenzae B* [223], no hi ha treballs que demostrin un major descens dels nivells d'IgG2 en els pacients amb pneumococèmia o pneumònia per pneumococ confirmada. Herer *et al* [208] sí que van observar, però, que la IgG total en el grup de pneumònia bacteriana era més baixa que en el grup de pneumònia viral, per bé que no van especificar els tipus de microorganisme. D'altra banda, en els treballs que van sorgir després de la pandèmia del 2009 per H1N1, sembla que la IgG2 podria tenir un paper rellevant, tal i com hem comentat. Encara més, Justel *et al* [194] en els pacients amb H1N1 i nivells d'IgG2 <59mg/dl i d'IgM <58mg/dL evidència que es moren abans. Utilitzant la mateixa

població afectada d'H1N1 i comparant-la amb una altra cohort de pacients amb pneumònia causada per altres virus, Almansa R *et al* [224] identifiquen un descens de la IgA significatiu en el grup H1N1.

- **Correlació de les Igs amb la gravetat de la PAC**

En el nostre treball hem observat que a major gravetat de la PAC menor és la concentració de les Igs, concretament dels subtipus IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA i IgM. Les Igs dels pacients que requereixen tractament domiciliari, són més baixes que les de la població sana, però aquesta diferència és encara més evident al comparar els pacients que requereixen ingrés a l'hospital i més si necessiten d'ingrés a UCI.

Quan analitzem el grup de pacients que requereix UCI, trobem que hi ha un percentatge de pacients amb nivells baixos d'IgG total, IgG1 i IgG2 major que en el grup que no necessita UCI. En el nostre treball, el fet de presentar un descens de la IgG total <680mg/dL triplica el risc de necessitar UCI (OR 3.03), de la mateixa manera que ho fa una IgG1 <323mg/dL (OR 3.59). Així mateix, una IgG2 <154mg/dL en duplica el risc (OR 1.8).

Respecte d'altres paràmetres de gravetat, es va veure que a major puntuació de l'escala de gravetat CURB65 major gravetat i mortalitat, i que els pacients de major CURB65 (puntuació 5 i 4), tots van necessitar d'ingrés a UCI. Vàrem poder establir una associació estadísticament significativa entre els nivells baixos d'IgG total i IgG1 i major puntuació del CURB65. Posteriorment en l'anàlisi multivariat (ajustat per CURB65 i comorbiditats), els nivells baixos d'IgG total es van associar de forma independent a la necessitat d'ingrés a UCI (OR 2.45 [IC95%=1.4-4.2; p=0.002]).

La conclusió a la que arribem a partir del nostre segon estudi, és que una major gravetat de la PAC comporten nivells més baixos d'IgG, la qual cosa no difereix de la troballa d'altres autors. L'estudi de Chan JF *et al* [222], en 74 pacients amb H1N1 (dels quals 38 són casos greus amb requeriment de suport ventilatori i 36 són casos més lleus que no requereixen de ventilació mecànica), troben uns nivells d'IgG2 significativament més baixos en els pacients greus. Gordon *et al* [213], comparen infeccions greus per H1N1 (n=19) amb infeccions per H1N1 d'afectació moderada (n=20), i troben que els nivells d'IgG2 van ser significativament més baixos en el grup d'infecció greu (1.8 ± 1.7 vs 3.4 ± 1.4 ; $p=0.003$); en canvi, els nivells d'IgG total i d'IgG1, tot i ser baixos en els pacients d'infecció greu, no eren estadísticament significatius. Val a dir, que en el grup de major gravetat hi havia un nombre significativament superior de dones embarassades (7 vs 2 pacients), major presència de pneumònia (16 vs 4; $p<0.001$) i més hipoproteinèmia segons els nivells d'albumina en sèrum. Feldman *et al* [225] van comparar un grup de 19 pacients amb PAC que van requerir UCI amb 47 pacients amb PAC menys greu, però hospitalitzats. Com calia esperar, va trobar diferències significatives en paràmetres clínics i biològics (freqüència respiratòria i cardíaca, valors d'urea, leucocitosis i leucopènia, més elevats en la població greu). Quan analitzen les subclasses d'IgG, van trobar nivells anòmals en un 47%, ja sigui per increment o per descens, però no van poder trobar diferències significatives entre grups ni entre supervivents i morts. Probablement, el fet que la mostra de pacients crítics sigui petita condiciona aquests resultats.

En el nostre estudi, estem comparant una sèrie de 418 pacients amb PAC, que estratifiquem per gravetat, segons requeriments assistencials i segons l'índex de CURB 65, aconseguint 191 pacients amb PAC greu que requereixen UCI i 227 pacients amb

afectació més lleu. Només per les PAC greus el dèficit d'alguns subtipus d'IgG (IgG1 i IgG2, sobretot) poden ser considerats com nous factors pronòstics de la malaltia.

També en aquest sentit, Tamayo et al [149] avalua una cohort de 42 pacients i compara l'associació dels nivells d'IgG i subclasses, IgA i IgM amb la gravetat del xoc sèptic, conclouent que hi ha una relació d'associació inversa entre la IgG total, les seves subclasses, la IgA i l'escala de gravetat APACHE II.

Per altre banda, un altre treball estudia la cinètica de la IgM en la sèpsia [191], i demostra que quan la sèpsia greu progressa a xoc sèptic es produeix un descens de la IgM circulant estadísticament significatiu ($p=0.039$).

- **Impacte de les Igs sobre la mortalitat de la PAC**

La conclusió més important del nostre treball és el fet d'haver trobat una relació entre els nivells baixos d'Igs en els pacients amb PAC i la seva mortalitat.

En el segon estudi, del total de 418 pacients, l'11.5% van ser exitus. Entre els factors associats a mortalitat, van ser significatius els nivells baixos d'IgG total ($<680\text{mg/dL}$), IgG1 ($<323\text{mg/dL}$) i IgG2 ($<154\text{mg/dL}$).

El tercer estudi d'aquesta tesi, es va realitzar amb la intenció d'aprofundir en la relació entre les Igs i la mortalitat. La troballa més significativa va ser identificar els nivells baixos d'IgG2 com a factor independent de risc de mortalitat. Tal i com s'ha vist, mitjançant dues anàlisis estadístiques, es va buscar el llindar de concentració d'IgG2 que s'associava a mortalitat. Els valors d'IgG2 van diferir poc entre les dues anàlisis, essent de 326mg/dL si es realitza una anàlisi per decils i de 301mg/dL , si busquem el punt de major sensibilitat i especificitat.

Els pacients amb uns nivells d'IgG2 < 326 mg/dL tenien tres vegades més risc de morir-se que els pacients amb uns nivells superiors (HR 3.48). En l'anàlisi multivariada per mortalitat, els factors de risc independents van ser el xoc, la necessitat de ventilació mecànica, el CURB, els antecedents de neoplàsia i els nivells baixos d'IgG2. A més, tenir una IgG2 < 326 mg/dL suposava una mortalitat més precoç.

Com hem descrit prèviament, hi ha treballs que han reportat que la subclasse IgG2 té uns nivells inferiors en els pacients amb PAC respecte dels pacients sans, d'altres relacionen els nivells baixos d'IgG2 amb la gravetat de la pneumònia i també alguns estudis han relacionat els nivells baixos d'IgG2 amb la predisposició a patir pneumònia (per H1N1 o per gèrmens capsulats). Però, fins a avui, no coneixem cap estudi en pacients amb pneumònia que hagi identificat el llindar d'IgG2 que actua com a protector de mortalitat. Els nostres resultats suggereixen que mesurar els nivells d'IgG dels pacients amb pneumònia, de forma precoç, podria ajudar a conèixer quins pacients tenen major risc de mortalitat.

Tot i que la teràpia amb Igs exògenes ja es postula com a tractament complementari en els pacients amb pneumònies greus, són necessaris estudis d'eficàcia i eficiència d'aquest tipus de tractament. En base als nostres resultats, creiem que no tots els pacients amb PAC greu són tributaris de tractament amb Igs. És necessari seleccionar aquell grup de pacients on el benefici pugui ser major, evitant l'ús indiscriminat d'Igs, evitant l'administració en pacients amb nivells endògens normals i minimitzant els efectes adversos. Aquesta opinió, corroborada per altres autors [148, 194], hauria de ser considerada en el disseny de futurs estudis clínics que utilitzin preparats d'Igs en pacients amb PAC greu [226]. Segons el nostre treball, la IgG2 es defineix com un bon

marcador de pronòstic vital, i per tant la seva determinació precoç pot ser útil a l'hora de plantejar tractament amb Igs.

- **Limitacions**

El nostre treball té algunes limitacions que cal destacar. La primera limitació ve donada pel fet que el treball es desenvolupa en un únic centre i que la recollida de pacients és perllongada (11 anys). En aquest període de temps, la mortalitat en la PAC es pot haver vist alterada per la introducció de noves estratègies i protocols terapèutics. La segona limitació, és que tot i els estrictes criteris d'inclusió i exclusió, desconeixem si alguns dels nostres pacients amb PAC presentaven prèviament alguna immunodeficiència no diagnosticada. En el primer estudi es va fer un seguiment en la fase de convalsència, detectant que un 80% dels pacients amb nivells baixos d'Igs van recuperar-los posteriorment, però ni en el segon i ni en el tercer estudi no es va fer seguiment posterior. En tercer lloc, tot i que no és exactament una limitació, hem de puntualitzar que els punts de tall utilitzats en el segon estudi, sorgeixen dels nivells més baixos d'Igs en una població sana concreta, i per tant, els resultats poden ser vàlids en el nostre àmbit però podria existir una certa variabilitat en altres zones.

Finalment hem de destacar que la complexitat del sistema immunitari és una limitació per a qualsevol dels estudis amb Igs. La majoria de treballs, inclòs el nostre, avaluen els nivells d'Igs a la fase aguda de la infecció, però aquests valors estan influenciats per altres elements de la resposta inflamatòria, com ara les cèl·lules Natural Killer (NK), que tenen un comportament invers en la sèpsia greu, a major NK més risc de mort [147], o bé les citoquines i quimioquines (G-CSF, IL1 α , IL6, IL7, IL8, IL 10, IL15,IP10, MCP1, FNT α) que disminueixen en la sèpsia greu respecte de la menys greu, i fins i tot

s'ha vist que els nivells baixos de IgG2 en els pacients amb infecció per H1N1 podrien estar relacionats amb la disregulació de les citokines [222, 227].

CONCLUSIONS

Els resultats dels estudis presentats en aquesta tesi mostren:

- 1. Els nivells d'immunoglobulines en sèrum en el moment del diagnòstic de la PAC són més baixos, respecte dels nivells de la població sana.** Els pacients amb PAC tenen uns nivells més baixos d'IgG total i IgG2 en comparació amb la població sana. Els nivells baixos d'IgG total eren més freqüents en pacients que requerien hospitalització. Nivells baixos d'IgG total i IgG2 predominen a les pneumònies d'altres etiologies diferents al *Streptococcus pneumoniae*. La majoria dels pacients que presentaven immunoglobulines baixes (75.5%) recuperaven els nivells a la fase de convallescència, pel que podríem considerar que es degut a un augment del consum d'Igs transitori i secundari al procés pneumònic.
- 2. A major gravetat de la PAC més baixos són els nivells d'Igs en sèrum.** Els pacients amb PAC greu que requereixen UCI tenen una concentració d'IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA i IgM menor que els pacients que necessiten de maneig a planta l'hospitalària, i aquests també les tenen en concentracions inferiors al pacients ambulatoris. Tenir uns nivells baixos d'IgG total, IgG1 i IgG2 són factors independents de major gravetat. Els pacients amb descens d'IgG total, IgG1 i IgG2, tripliquen i dupliquen respectivament el risc d'ingrés a UCI. El 20.9% dels pacients que es moren tenen un nivells baixos d'IgG total respecte del 8% dels que sobreviuen ($p < 0.001$).

3. **La IgG2 és un marcador de pronòstic i de mortalitat independent, del xoc, de la necessitat de ventilació mecànica o d'un CURB elevat, en la PAC greu.**

Nivells baixos d'IgG2 (<326mg/dL) augmenten el risc de requerir UCI i tripliquen el risc de mortalitat, que fins i tot pot ser més precoç.

ANNEXES

ANNEX I: Escales de Gravetat de PAC

CURB65

1 punt per cada ítem:

- Confusió
- Urea > 7mmol/L
- Ratio Respiratori (≥ 30 resp/min)
- Pressió Arterial (Sistòlica < 90mmHg o Diastòlica < 60mmHg)
- Edat ≥ 65 anys



CLASSIFICACIÓ DE RISC	MORTALITAT (%)	RECOMANACIÓ
0	0.7	DOMICILI
1	2.1	DOMICILI
2	9.2	UNITAT CURTA ESTADA
3	14.5	HOSPITAL
4	40	UCI
5	57	UCI

CURB

1 punt per cada ítem:

- Confusió
- Urea > 7mmol/L
- Ratio Respiratori (≥ 30 resp/min)
- Pressió Arterial (Sistòlica <

PSI (Fine et al)

IDENTIFICACIO DEL RISC EN PACIENTS AMB PAC	
CARACTERISTIQUES DEL MALALT	PUNTUACIÓ ASSIGNADA
EDAT	ANYS ANYS -10 EN DONES
RESIDÈNCIA / ASIL / INSTITUCIONALITZAT	+10
MALALTIA NEOPLÀSICA	+30
MALALTIA HEPÀTICA	+20
INSUFICIÈNCIA CARDIACA CONGESTIVA	+10
AVC	+10
MALALTIA RENAL	+10
ESTAT MENTAL ALTERAT	+20
FREQÜÈNCIA RESPIRATÒRIA ≥ 30 /minut	+20
TENSIÓ ARTERIAL SISTÒLICA <90 mm Hg	+20
TEMPERATURA $<35^{\circ}\text{C}$ o $\geq 40^{\circ}\text{C}$	+15
FREQÜÈNCIA CARDÍACA ≥ 125 /minuto	+10
pH $<7,35$	+30
BUN $> 10,7$ mmol/L	+20
SODI <130 mEq/L	+20
GLUCOSA $>13,8$ mmol/L	+10
HEMATOCRIT $<30\%$	+10
PO ₂ <60 mmHg o SATURACION DE O ₂ $<90\%$	+10
VESSAMENT PLEURAL	+10

ESTRATOS DE RIESGO	PUNTUACIÓN	MORTALIDAD
FINE I	<50	0,1
FINE II	51-70	0,6
FINE III	71-90	2,8
FINE IV	91-130	8,2
FINE V	>130	29,2

ANEX II: Definició de les variables d'estudi.

1. Paràmetres demogràfics:

- a. Dades filiació i origen (ciutat) de procedència
- b. Edat
- c. Sexe: Home/dona
- d. Dies d'estada Hospitalària: des del dia d'ingrés fins el d'alta inclosos ambdós
- e. Dies d'estada a UMI: des del dia d'ingrés fins el d'alta inclosos ambdós.

2. Antecedents patològics:

- a. Hàbit enòlic: enolisme actiu de més de 80 grams d'alcohol/dia en els últims 10 anys.
- b. Hàbit tabàquic: consum de tabac de més d'1 paquet/dia en els últims 10 anys.
- c. Adicte a drogues via parenteral.
- d. Malignitat: qualsevol neoplàsia excepte el basal o escamòs de pell, actiu al moment del diagnòstic de la neumònia o diagnosticat a l'any previ.
- e. Malaltia pulmonar crònica : bronquitis crònica definida per criteris clínics o per espirometria, asma, presència de bronquiectasies, seqüeles de tuberculosi o altres malalties intersticials.
- f. Cardiopatia: insuficiència cardíaca congestiva amb disfunció ventricular documentada per troballes clíniques, radiològiques, ecocardiogràfiques o ventriculografia. Valvulopaties o altres causes com alteracions del ritme o malformacions.
- g. Malaltia neurològica: accident cerebrovascular o neurodegenerativa.
- h. Diabetis mellitus: intolerància a la glucosa, amb tractament amb antidiabètics orals o insulina.
- i. Hepatopatia: es refereix a causa tòxica o viral i a la cirrosi compensada.
- j. Insuficiència renal crònica: valors elevats de forma crònica de creatinina $>2\text{mg/dL}$ o urea major a 40mg/dL .

3. Paràmetres microbiològics:

- a. Hemocultius: positius o negatius segons hi hagi o no creixement de microorganismes no contaminants.
- b. Cultiu d'esput: creixement de gèrmens no contaminants.
- c. Gram: positiu o negatiu segons si és o no d'una bona mostra. Es defineix la qualitat de la mostra com a gram positiu si hi ha menys de 10 cèl·lules escamoses i més de 25 leucòcits.
- d. Aspirat traqueal (BAS): es farà el gram i cultiu. Es considera positiu si hi ha creixement de més de 10^5 UFC/ml
- e. Rentat broncoalveolar (BAL): es considera positiu si hi ha creixement de més de 10^4 UFC/ml.
- f. Mini-BAL: es considera positiu si hi ha més de 10^4 UFC/ml.
- g. Antigen *Legionella* tipus I: detecció de l'antigen a l'orina.
- h. Antigen pneumococ: detecció de l'antigen a l'orina.
- i. Antigen legionella d'altres serotips identificats per PCR (Reacció en cadena de la polimerasa)
- j. Cultiu líquid pleural (toracocentesi) positiu per algun microorganisme.

4. Tractaments antibiòtics:

- a. Ús d'antibiòtics previ a l'ingrés (24h de tractament)
- b. Antibioticoteràpia empírica
- c. Modificacions segons antibiograma (simplificació del tractament o canvi).

5. Paràmetres evolutius:

- a. Empitjorament radiològic: en la radiografia de les 48 hores, evidència d'augment del infiltrats pulmonars major o igual al 50% respecte a la Rx d'ingrés.
- b. Empiema
- c. Bacterièmia: presència de bactèries viables a sang.
- d. Xoc sèptic: hipotensió induïda per sepsis, amb hipoperfusió i disfunció d'òrgans, que persisteix tot i la reposició adequada de fluids i la infusió de drogues vasopressores durant més de 4 hores.
- e. Fracàs renal agut: deteriorament de la funció renal brusc o progressió, amb retenció de productes nitrogenats, alteració hidroelectrolítica i de l'equilibri àcid-base. (Creatinina $>1'5\text{mg/dl}$ i diuresis $< 20\text{ml/hora}$ o diuresis $< 80\text{ml/4h}$)
- f. Ventilació mecànica no invasiva
- g. Intubació i ventilació mecànica invasiva.
- h. Dies d'intubació
- i. SDRA: alteració pulmonar d'inici agut definida com $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ menor o igual a 200, independentment del nivell de PEEP utilitzat, infiltrats bilaterals a la radiografia de tòrax i pressió del capilar pulmonar (PCP) menor o igual a 18mmHg.
- j. Exitus.

6. Exclúsió: Inmunodeprimit: immunosupressió primària, neutropènia ($\text{PMN} < 1000/\text{mm}^3$), disfunció de la immunitat cel·lular i/o humoral. Immunosupressió secundària per radioteràpia, citotòxics, SIDA o corticoides (més de 20mg/dia de prednisolona o dosis equivalent d'altres corticoides durant dues setmanes).

ANNEX III: Sensibilitat i Especificitat IgG2

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): Ig G2

Positive If Less Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
27.00	.000	.000
38.00	.000	.003
53.50	.000	.006
62.00	.000	.009
65.50	.024	.009
69.00	.024	.013
72.50	.024	.016
74.00	.024	.019
76.00	.024	.022
78.50	.049	.022
81.50	.073	.022
84.00	.073	.028
87.00	.073	.031
89.50	.073	.034
93.50	.073	.038
98.50	.098	.038
100.50	.098	.044
101.50	.098	.047
102.50	.098	.050
104.50	.098	.053
108.00	.098	.056
111.00	.122	.060
112.50	.146	.060
113.50	.171	.066
115.00	.171	.072
119.00	.195	.072
122.50	.195	.075
123.50	.195	.078
124.50	.195	.082
126.00	.220	.082
127.50	.220	.085
128.50	.220	.088
130.50	.220	.094
133.00	.220	.097
134.50	.220	.103
135.50	.220	.107
136.50	.220	.110

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): Ig G2

Positive If Less Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
138.50	.220	.113
141.00	.220	.116
143.00	.220	.119
144.50	.220	.125
145.50	.244	.129
146.50	.268	.129
147.50	.268	.132
148.50	.268	.135
149.50	.268	.141
150.50	.268	.144
151.50	.268	.147
152.50	.268	.154
153.50	.293	.154
154.50	.341	.160
156.50	.341	.163
159.00	.341	.169
160.50	.341	.172
161.50	.366	.172
163.00	.366	.176
165.00	.366	.179
166.50	.366	.185
167.50	.366	.188
168.50	.366	.191
169.50	.366	.194
170.50	.366	.197
173.50	.366	.201
176.50	.390	.204
178.00	.415	.207
180.00	.415	.210
181.50	.415	.216
182.50	.439	.216
183.50	.439	.226
186.50	.439	.229
189.50	.439	.232
190.50	.439	.238
192.00	.439	.245
194.50	.439	.248

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): Ig G2

Positive If Less Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
197.50	.439	.251
200.00	.439	.263
201.50	.439	.270
203.00	.439	.273
204.50	.439	.276
206.00	.439	.279
207.50	.439	.282
209.00	.439	.285
210.50	.439	.292
211.50	.439	.295
212.50	.439	.301
215.00	.463	.301
219.00	.488	.301
221.50	.488	.307
222.50	.488	.310
223.50	.488	.313
225.00	.488	.320
227.00	.488	.323
228.50	.512	.329
231.00	.512	.332
233.50	.512	.335
234.50	.512	.345
235.50	.512	.351
236.50	.537	.354
238.50	.537	.357
240.50	.537	.361
241.50	.537	.364
245.00	.537	.367
248.50	.537	.370
250.00	.537	.379
252.00	.561	.382
253.50	.585	.386
254.50	.585	.389
257.00	.610	.389
259.50	.634	.389
261.00	.634	.392
262.50	.634	.395

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s):lg G2

Positive If Less Than or Equal To	Sensitivity	1 - Specificity
263.50	.634	.398
264.50	.634	.401
266.00	.634	.408
267.50	.634	.414
268.50	.634	.417
269.50	.634	.420
270.50	.634	.423
271.50	.634	.426
272.50	.659	.429
273.50	.683	.429
274.50	.707	.433
275.50	.707	.439
276.50	.707	.442
277.50	.707	.445
279.00	.707	.448
280.50	.707	.451
281.50	.732	.451
282.50	.732	.455
285.50	.732	.458
289.00	.732	.461
290.50	.756	.461
291.50	.780	.464
292.50	.780	.470
293.50	.805	.473
294.50	.805	.483
296.00	.805	.486
297.50	.805	.489
298.50	.805	.492
299.50	.805	.495
301.00	.829	.502
302.50	.829	.505
304.00	.829	.508
305.50	.829	.517
306.50	.829	.524
308.00	.829	.527
309.50	.829	.533
312.50	.829	.539

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s):lg G2

Positive If Less Than or Equal To	Sensitivity	1 - Specificity
315.50	.829	.545
316.50	.829	.549
318.00	.829	.552
319.50	.829	.555
321.00	.829	.558
322.50	.829	.564
324.50	.829	.567
326.50	.829	.571
327.50	.829	.577
328.50	.829	.580
330.00	.829	.583
331.50	.829	.589
332.50	.829	.592
333.50	.829	.596
334.50	.829	.602
335.50	.829	.605
336.50	.829	.611
337.50	.829	.614
338.50	.829	.618
340.00	.829	.621
341.50	.829	.624
342.50	.829	.627
343.50	.829	.630
344.50	.829	.633
345.50	.829	.639
346.50	.829	.643
347.50	.829	.646
348.50	.829	.649
351.00	.829	.652
353.50	.829	.658
354.50	.829	.661
361.50	.829	.668
368.50	.829	.671
370.00	.829	.674
372.00	.854	.680
373.50	.854	.683
375.00	.854	.693

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s):lg G2

Positive If Less Than or Equal To	Sensitivity	1 - Specificity
377.50	.854	.696
380.50	.854	.699
383.50	.854	.702
386.50	.854	.708
389.00	.854	.712
390.50	.854	.718
394.50	.854	.721
398.50	.854	.724
399.50	.854	.727
401.00	.854	.730
403.00	.854	.734
404.50	.854	.737
406.00	.854	.743
407.50	.854	.749
408.50	.854	.752
411.00	.854	.755
414.00	.854	.759
415.50	.854	.762
417.50	.854	.768
420.00	.854	.774
422.00	.854	.777
424.50	.854	.781
427.00	.854	.787
429.00	.854	.790
430.50	.854	.799
433.00	.854	.806
437.50	.854	.809
441.00	.854	.812
443.00	.854	.815
445.50	.854	.818
449.00	.854	.821
453.00	.854	.824
456.00	.854	.828
459.50	.854	.831
462.50	.854	.834
464.00	.854	.840
466.50	.854	.843

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): Ig G2

Positive If Less Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
468.50	.854	.846
469.50	.854	.850
473.00	.854	.853
477.00	.854	.856
483.50	.854	.859
491.50	.854	.862
495.50	.854	.868
497.50	.854	.875
498.50	.854	.878
499.50	.854	.881
500.50	.854	.884
502.00	.854	.887
511.00	.854	.890
522.00	.854	.893
525.50	.854	.900
529.50	.854	.906
534.00	.854	.909
536.50	.854	.912
545.00	.854	.915
554.50	.854	.918
563.00	.854	.925
570.50	.854	.928
588.50	.854	.931
605.50	.878	.931
611.00	.878	.934
616.50	.878	.937
619.00	.902	.940
628.50	.927	.940
637.00	.927	.944
638.50	.927	.947
648.50	.927	.950
670.50	.927	.953
687.00	.927	.956
694.00	.927	.962
699.50	.951	.962
708.50	.951	.966
722.50	.976	.966

Coordinates of the Curve

Test Result Variable(s): Ig G2

Positive If Less Than or Equal To ^a	Sensitivity	1 - Specificity
730.50	.976	.969
731.50	.976	.972
742.50	.976	.975
781.50	.976	.978
819.00	.976	.981
849.00	.976	.984
877.50	1.000	.984
909.50	1.000	.987
965.00	1.000	.991
1043.00	1.000	.994
1135.00	1.000	.997
1181.00	1.000	1.000

The test result variable(s): Ig G2 has at least one tie between the positive actual state group and the negative actual state group.

a. The smallest cutoff value is the minimum observed test value minus 1, and the largest cutoff value is the maximum observed test value plus 1. All the other cutoff values are the averages of two consecutive ordered observed test values.

IgG2 cat (p.tall 301) * Mort_KM_30d Crosstabulation

		Mort_KM_30d		Total	
		.00	1.00		
IgG2 cat (p.tall 301)	<=301	Count	160	34	194
		% within IgG2 cat (p.tall 301)	82.5%	17.5%	100.0%
		% within Mort_KM_30d	50.2%	82.9%	53.9%
>301	Count	159	7	166	
	% within IgG2 cat (p.tall 301)	95.8%	4.2%	100.0%	
	% within Mort_KM_30d	49.8%	17.1%	46.1%	
Total		Count	319	41	360
		% within IgG2 cat (p.tall 301)	88.6%	11.4%	100.0%
		% within Mort_KM_30d	100.0%	100.0%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	15.701 ^a	1	.000		
Continuity Correction ^b	14.410	1	.000		
Likelihood Ratio	17.184	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	15.657	1	.000		
N of Valid Cases	360				

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 18.91.
 b. Computed only for a 2x2 table

ANEX IV: Articles resultants de la tesi.

Respiratory Medicine (2013) 107, 2038–2045

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

journal homepage: www.elsevier.com/locate/rmed

Serum immunoglobulins in the infected and convalescent phases in community-acquired pneumonia

Mari C. de la Torre ^{a,1}, Ignasi Bolívar ^{b,1}, Montse Vendrell ^c,
 Javier de Gracia ^d, Ester Vendrell ^e, M. José Rodrigo ^g,
 Xavier Boquet ^f, Pablo Torrebadella ⁱ, Joan-Carles Yébenes ^a,
 Mateu Serra-Prat ^{j,k}, Jordi Rello ^h, Antoni Torres ^l,
 Jordi Almirall ^{a,*,1}

^a Critical Care Service, Hospital de Mataró, Universitat Autònoma de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain

^b Department of Clinical Epidemiology and Public Health, Institute of Biomedical Research (IIB Sant Pau) Barcelona, Universitat Autònoma de Barcelona, Ciber de Epidemiologia y Salud Pública (CIBERESP), Barcelona, Spain

^c Department of Pneumology, Hospital Josep Trueta, CIBERES, Girona, Spain

^d Department of Pneumology, Hospital Universitari Vall d'Hebron, CIBERES, Barcelona, Spain

^e Department of Internal Medicine, Hospital de Mataró, Universitat Autònoma de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain

^f Department of Biochemistry, Hospital de Mataró, Universitat Autònoma de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain

^g Department of Biochemistry, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain

^h Critical Care Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain

ⁱ Critical Care Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

^j Research Unit, Consorci Sanitari del Maresme, Mataró, Barcelona, Spain

^k CIBEREHD, Barcelona, Spain

^l Servei de Pneumologia, Institut Clínic del Torax, IDIBAPS, Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain

Received 9 November 2012; accepted 7 September 2013

Available online 18 September 2013

* Corresponding author. Critical Care Unit, Hospital de Mataró, Carretera de la Cirera s/n, E-08304 Mataró, Barcelona, Spain. Tel.: +34 93 7417747; fax: +34 93 7417770.

E-mail addresses: mctorre@cscdm.cat (M.C. de la Torre), IBolibar@santpau.cat (I. Bolívar), mvendrell.girona.ics@gencat.cat (M. Vendrell), jgracia@separ.es (J. de Gracia), estervendrell@hotmail.com (E. Vendrell), mjrodrigo@vhebron.net (M.J. Rodrigo), xboquet@cscdm.cat (X. Boquet), ptorrebadella.germanstrias@gencat.cat (P. Torrebadella), jyebenes@cscdm.cat (J.-C. Yébenes), mserra@cscdm.cat (M. Serra-Prat), jrello@vhebron.net (J. Rello), ATORRES@clinic.ub.es (A. Torres), jalmirall@cscdm.cat (J. Almirall).

¹ These authors contributed equally and share first authorship credit.

0954-6111/\$ - see front matter © 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2013.09.005>

KEYWORDS

Community-acquired pneumonia;
IgG;
IgG subclasses;
Immunoglobulins;
Prognosis

Summary

Background: A population-based case-control study was designed to assess changes of serum levels of immunoglobulins and IgG subclasses between infected and convalescent phase in community-acquired pneumonia (CAP).

Methods: Over a 2-year period, all subjects who were >14 years of age living in the Maresme region (Barcelona, Spain) diagnosed of CAP were registered. Controls were healthy subjects selected from the municipal census. Prognostic factors were assessed and serum levels of total IgG, IgA, IgM, and IgG subclasses were measured at diagnosis and 1 month later (cases).

Results: We studied 171 patients with CAP and 90 controls. All immunoglobulins were significantly lower in cases than in controls. At diagnosis, 42.7% of cases showed low levels of some immunologic parameter, mainly total IgG and IgG2. Low immunoglobulin levels at diagnosis were more frequent in patients requiring in-patient care and in those with pneumonia of other etiology than *Streptococcus pneumoniae*. In the convalescent phase, 26 (23.6%) patients normalized immunological levels. In 27 (24.5%) cases, some parameter with low levels persisted especially in patients with etiology of CAP other than *S. pneumoniae*.

Conclusions: Low serum levels of immunoglobulins particularly total IgG and IgG2 were a common finding in patients with CAP compared to healthy controls. Low immunoglobulin levels may be related to CAP prognosis and persisted in the convalescent phase in one-fourth of cases.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Community-acquired pneumonia (CAP) remains an important cause of morbidity and mortality in industrialized countries. In the general adult population, the annual incidence of CAP ranges between 1.6 and 13.4 cases per 1000 inhabitants [1,2], 22–51% of which requiring in-patient care, with a lethality of 3–25% [3,4]. The mortality rate varies between 0.1 and 0.7 per 1000 persons-year [1,5].

In the small number of population-based studies carried out in patients with CAP, neither the occurrence of CAP nor the outcome of patients in relation to serum levels of immunoglobulins and IgG subclasses has been investigated. Although in patients with recurrent pneumonia, hypogammaglobulinemia and low levels of IgG subclasses have been reported [6,7], the true incidence of low values of immunoglobulins and/or IgG subclasses during an episode of CAP as well as in relation to the severity of pneumonia is unknown.

The objective of this population-based case-control study was to assess serum levels of immunoglobulins and IgG subclasses in a sample of patients diagnosed of CAP. Serum levels at the time of diagnosis were compared with those obtained in a group of healthy subjects without CAP, and changes between serum levels at diagnosis and after 30 days were evaluated. The relationship between prognostic factors and clinical outcome and serum levels of immunoglobulins at diagnosis and during the convalescent phase was also analyzed.

Patients and methods**Design and setting**

The study was conducted in a mixed residential-industrial urban area of the Maresme region at the Mediterranean coast in Barcelona, Spain. On a daily basis, all subjects >14

years of age living in the area (an annual population size of 74,368 inhabitants) with CAP diagnosis were assessed. All physicians working in public primary health care centers and private clinics of the Maresme region participated in the reporting of cases. Details of this study have been previously published elsewhere [8,9].

Patients (cases) and controls

Predefined criteria for case registration were based on acute lower respiratory tract infection for which antimicrobials had been prescribed in association with the appearance of previously unrecorded focal signs of physical examination of the chest [1] and new radiologic findings suggestive of pulmonary infiltrate, which was required for all suspected cases. Patients with aspiration pneumonia (witnessed aspiration with respiratory symptoms or oral content aspiration) or active pulmonary tuberculosis, and patients coming from nursing homes or having being discharged from hospital <7 days before the onset of symptoms were excluded from the study. Other exclusion criteria were congenital hypogammaglobulinemia, administration of polyclonal intravenous immunoglobulins in the previous 3 months, and patients with underlying diseases associated with secondary immune deficiencies including parenteral treatment of immunosuppressant agents and/or corticosteroids, active malignancy, infection by the human immunodeficiency virus (HIV), chronic liver disease, protein-losing enteropathy, and nephrotic syndrome.

A clinico-radiologic evaluation on enrollment, at 5 days, and at 30 days or until complete healing was performed in all patients.

For each case, a control healthy subject was recruited. Control subjects were randomly selected from the municipal census and were matched by age (± 5 years), sex, and place of residence. All controls gave written informed consent to

draw a blood sample for the immunologic study and to be interviewed to collect data on the study variables.

Immunologic study

Blood samples were obtained from all patients at the time of diagnosis of CAP (acute phase) and in some of the patients, a new blood sample was drawn after 30 days (convalescent phase). In controls, blood samples were obtained at the time of the personal interview. In all cases, samples were stored at -80°C until analysis. Serum total IgG, IgA, and IgM levels were measured by kinetic nephelometry (Array Protein System; Beckman Instruments, Brea, CA, USA) and serum IgG subclasses by enzyme-linked immunosorbent assay [10].

Because normal values of serum concentration of immunoglobulins or IgG subclasses in CAP patients were unknown, conservative cut-points for defining low levels in 'cases' were based on the lowest values obtained in 'controls', which were 30 mg/dL for IgM, 50 mg/dL for IgA, 680 mg/dL for IgG, 323 mg/dL for IgG1, 154 mg/dL for IgG2, 10 mg/dL for IgG3, and 5 mg for IgG4. Hypogammaglobulinemia was defined as a serum IgG level <500 mg/dL in analysis performed on the first, second, or both blood samples [10].

Study variables

Study variables were collected using a reliable questionnaire on CAP-related factors [8], which was administered directly through a personal interview to cases and controls by trained young physicians and nurses at home except for some inpatient subjects who were interviewed at the end of their hospital stay. Study variables were classified into prognostic factors, and clinical outcome of CAP. Prognostic factors included severity of CAP defined by the need of hospital treatment according to the risk classes defined by Fine et al. [11] and microbiologic diagnosis of CAP (bacterial, viral, or both as well as CAP caused by *Streptococcus pneumoniae* or *Chlamydia pneumoniae*).

The microbiologic diagnosis of CAP was based on results of blood cultures and cultures of respiratory tract secretions (via fiberoptic bronchoscopy, bronchoalveolar lavage, plugged double catheter) or pleural fluid samples, as well as on the detection in urine of *Legionella pneumophila* and *S. pneumoniae* antigen [9]. An aetiological diagnosis was also based on 4-fold rise in IgG titers for respiratory viruses (influenza virus A and B, parainfluenza virus 1–3, adenovirus, respiratory syncytial virus), and *Chlamydia psittaci*, *Coxiella burnetti*, *Mycoplasma pneumoniae*, and *L. pneumophila* between paired serum samples obtained within 30 days.

Clinical outcome of CAP was obtained from revision of the patient's medical record and included length of hospital stay, number of days to clinical healing (disappearance of all clinical symptoms), and number of days to return to normal daily activities (days to return to work in employed patients).

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Consorci Sanitari del Maresme (Barcelona, Spain) and all participants gave written informed consent before enrollment.

Statistical analysis

Firstly, serum levels of immunoglobulins and IgG subclasses in cases and controls expressed as median a 5% and 95% percentiles are reported. Differences between cases and controls were analyzed with the Wilcoxon two-sample paired signed-rank test. Secondly, the frequency of patients with CAP and low serum levels of immunoglobulins and IgG subclasses at diagnosis is described. The analysis of CAP patients with low levels of immunoglobulins at diagnosis was limited to total IgG, IgG1, and IgG2 because of the small frequency of the remaining parameters (4 cases or fewer). The relationship between the percentage of patients with low serum levels of acute phase immunologic parameters with CAP prognostic factors, and clinical outcomes were assessed with the Fisher's exact test for the categorical variables and the Wilcoxon two-sample paired signed-rank test or the Kruskal–Wallis test for continuous variables. Finally, patients were grouped into "normal–normal", "low levels–normal levels" and "low levels–low levels" according to changes of the immunologic status from diagnosis to convalescence. The relationship between these three patterns of progression with etiology, prognostic factors, and clinical outcomes was analyzed using the Fisher's exact test and the Wilcoxon two-sample paired signed-rank test or the Kruskal–Wallis test as needed. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

Study population and salient findings

A total of 241 patients, 140 men with a mean (standard deviation, SD) age of 55 (21) years and 101 women with a mean age of 51 (21) years, received a diagnosis of CAP. Seventy (29%) patients were excluded for the following reasons: immunosuppressive therapy in 21, HIV seropositivity in 17, chronic liver disease in 13, active malignancy in 5, death prior to blood sampling in 6, serum invalid blood sample in 5, and inability to contact the patient after diagnosis in 3. Participation in the study was proposed to 171 healthy subjects, 81 of which (47.4%) refused (Fig. 1).

The study population included 171 cases (94 men with a mean [SD] age of 53.8 [19.6] years and 77 women with a mean [SD] age of 50.9 [20.7] years) and 90 controls (51 men with a mean [SD] age of 54.5 [18.5] years and 39 women with a mean [SD] age of 52.6 [21.0] years). The distribution of cases and controls according to sex ($P = 0.9$) or age ($P = 0.6$) was not significantly different. Previous CAP was recorded in 25 cases (14.6%) and 8 controls (8.9%) ($P = 0.2$).

Of the 160 patients with etiologic evaluation, 73 (45.6%) had an identifiable etiology. There were 47 episodes of bacterial infection, 20 of viral infection, and 6 of mixed bacterial and viral infection. *S. pneumoniae* and *C. pneumoniae* were the most common pathogens and accounted for 20 and 15 cases, respectively.

A total of 95 patients (55.5%) were admitted to the hospital. All of them fulfilled the hospitalization criteria of

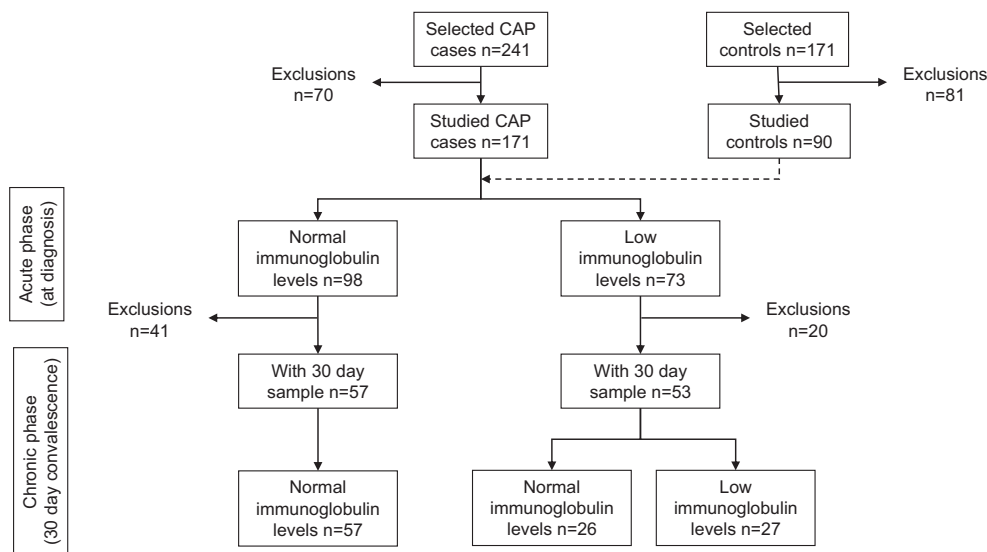


Figure 1 Flow-chart of the study population.

Fine et al. [11], with a mean (SD) hospital stay of 11.1 (9.7) days. Twelve patients were admitted to the ICU, and three of these patients died. The mean (SD) time from diagnosis to return of daily activities was 22.6 (14.4) days.

which accounted for 40.3% of cases and 94.5% of all CAP patients with low immunoglobulins. Hypogammaglobulinemia was observed in 18 cases (10.5% of all patients with CAP).

Serum immunoglobulin levels in cases and controls

Changes of serum immunoglobulins from the acute to the convalescent phase

At the time of diagnosis, serum levels of total IgG, IgA, and IgG subclasses IgG1, IgG2 were significantly lower in cases than in controls (Table 1). Statistical significance was almost reached for IgG3. Low levels of some immunologic parameter were observed in 73 (42.7%) patients, with decreased total IgG values in 51 (29.8%) and decreased IgG2 values in 38 (22.2%). The IgG1 subclass was also low in 19 (11.1%) patients. Low levels of the remaining immunoglobulins were infrequent (Table 1). Sixty-nine cases showed low serum levels of total IgG and/or IgG2 subclass,

Serum immunoglobulin levels were measured at 30 days after diagnosis of CAP in 110 (64.3%) of the 171 patients. Forty patients refused blood sampling or did not attend the control visit, the blood sample was insufficient or invalid in 18, and 3 patients had died during their stay in the ICU.

Changes of immunologic status from diagnosis to convalescence according to the groups of "normal-normal", "low levels-normal levels" and "low levels-low levels" are shown in Fig. 2. Fifty-seven (51.8%)

Serum immunoglobulins	Controls (n = 90) Median (IQR) ^a	Cases (n = 171) Median (IQR)	P value	Patients with low immunoglobulin levels No. (%)
Total IgG, mg/dL	1120 (810–1560)	820 (440–1440)	<0.0001	51 (29.8)
IgA, mg/dL	245 (90–550)	200 (70–440)	0.0007	4 (2.3)
IgM, mg/dL	100 (40–250)	110 (40–300)	0.2	3 (1.7)
IgG subclasses, mg/dL				
IgG1	651 (403–1017)	521.5 (265–932)	<0.0001	19 (11.1)
IgG2	328.5 (172–560)	240 (76–560)	<0.0001	38 (22.2)
IgG3	52.5 (19–113)	44.5 (17–104)	0.05	2 (1.7)
IgG4	38 (5–130)	31 (5–137)		0

^a IQR: interquartile range (5th–95th percentile).

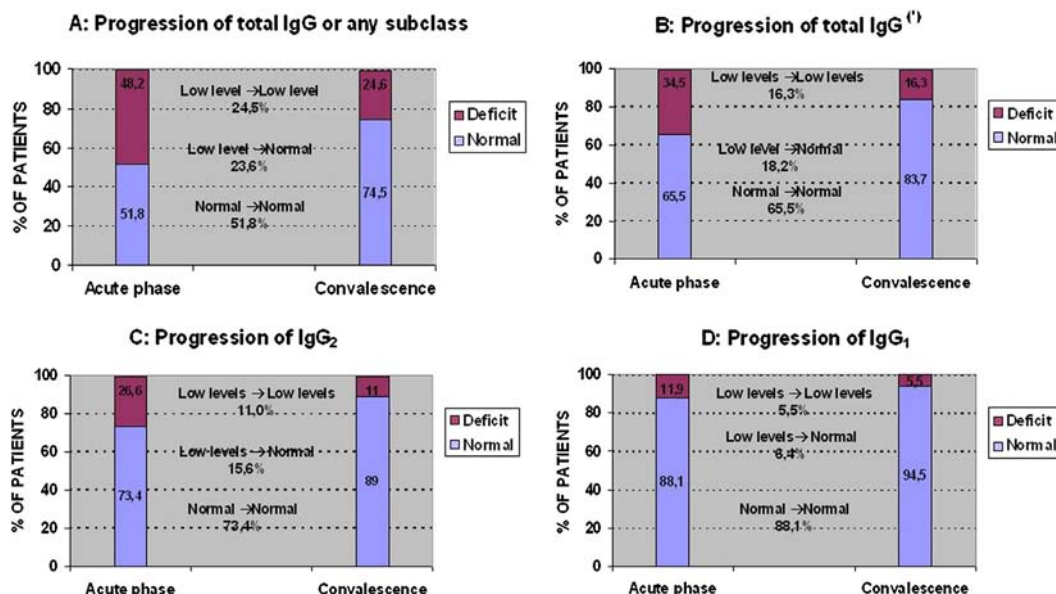


Figure 2 Progression of serum levels of total IgG and IgG subclasses in 110 patients with CAP from the acute phase of the disease to convalescence.

patients had normal levels in the acute and convalescent phases of total IgG or any subclass, 26 (23.6%) patients had low levels in the acute phase and normal levels in the convalescent phase, and the remaining 27 (24.5%) had low levels in the acute and convalescent phases. The percentage of patients with hypogammaglobulinemia decreased from 10.5% in the acute phase to 3.6% at convalescence. As compared with IgG1 and IgG2 subclasses, total IgG was the immunoglobulin fraction with the highest percentage of patients with low levels in the acute phase (34.5%) as well as patients who returned to normal values (18.2%) and patients with persistent low values (16.3%) during convalescence. The IgG2 subclass also showed an important percentage of progression to normal levels (15.6%), with a percentage of patients of 11% with persistence of low levels. IgG1 was the immunologic parameter with the lowest percentage of patients returning to normal values (6.4%) and the lowest percentage of patients with low levels at convalescence (5.5%). In general, approximately half of the patients with low serum immunoglobulin levels in the acute phase had persistent low levels in the convalescent phase.

Low serum immunoglobulins at diagnosis and prognostic factors, and outcome of CAP

In relation to prognostic factors, low levels of total IgG were significantly more frequent in patients who required hospital admission ($P = 0.01$) and in those with etiologies other than *S. pneumoniae* ($P = 0.04$). Low serum levels of IgG2 also were significantly more frequent in patients with etiologies other than *S. pneumoniae* ($P = 0.008$) (Table 2). There were no statistically significant differences in relation to outcome variables, including length of hospital stay, days to clinical healing, days to return to normal activities, and mortality.

Changes of serum immunoglobulins levels from acute to convalescent phases and prognostic factors, and outcome of CAP

In relation to prognostic factors, the percentage of patients with persistent low levels of either IgG2 subclass ($P = 0.01$) or any immunoglobulin ($P = 0.009$) was significantly lower in those with *S. pneumoniae* or *C. pneumoniae* etiology (Table 3). Changes of serum immunoglobulins were unrelated to clinical outcome of CAP.

Discussion

This population-based study shows for the first time that serum levels of immunoglobulins are lower in adults with CAP than in healthy controls, with a prevalence of 42.7%. The present study had a double objective. On the one hand, to describe serum levels of immunoglobulins at different phases of CAP and, on the other, to explore potential associations that may tentatively help clinicians to establish the prognosis of the disease. Firstly, an important finding was the high frequency of low serum IgG levels at the time of diagnosis of CAP. In about 24% of patients, normalization of these values over the course of the disease was documented but low immunoglobulin levels persisted during the convalescent phase in a quarter of patients. Secondly, analysis of the associations between serum levels of immunoglobulins both at the acute phase of CAP and during convalescence and prognostic factors, and clinical outcome was limited by the non-uniform behavior of some immunoglobulins, such as IgG2 subclass, and the weight of total IgG in relation to other immunoglobulins (total IgG is composed by their subclasses and correlates with IgA and IgM).

On diagnosis of CAP, 42.7% of patients had low levels of some IgG or IgG subclasses, mainly total IgG (29.8% of cases),

Table 2 Relationship between low serum immunoglobulins at diagnosis and prognostic factors of CAP.

Variables	IgG1		IgG2		Total IgG		Any immunoglobulin	
	% patients	P value	% patients	P value	% patients	P value	% patients	P value
Severity of CAP								
Outpatient care, n = 79	6.4	0.09	19.2	0.5	20.3	0.01	38.0	0.3
In-patient care, n = 92	15.2		25.0		38.0		46.7	
Etiologic diagnosis								
Not studied, n = 98	13.4	0.9	20.6	0.2	34.7	0.2	42.9	0.2
Bacterial, n = 47	8.5		21.3		27.7		44.7	
Viral, n = 20	10.0		40.0		20.0		50.0	
Mixed viral and bacterial, n = 6	0		0		0		0	
<i>Streptococcus pneumoniae</i> as etiology of CAP								
Yes, n = 20	10.0	1.0	0	0.008	10.0	0.04	15.0	0.008
No, n = 151	11.3		25.3		32.5		46.4	
<i>Chlamydia pneumoniae</i> as etiology of CAP								
Yes, n = 15	0	0.2	26.7	0.7	26.7	1.0	53.3	0.4
No, n = 156	12.3		21.9		30.1		41.7	

IgG2 (22.2% of cases), and IgG1 (11.1% of cases). Low levels persisted in the convalescent phase in 24.5% of patients. In addition, 10.5% of patients showed IgG levels lower than 500 mg/dL, which persisted during convalescence in 3.6% of cases. This observation demonstrates the influence of CAP on decreasing serum levels of immunoglobulins that may be likely due to a greater consumption due to the infection itself or to a limited quantitative response in the production of antibodies against infection [12–14]. The fact that low levels were predominantly total IgG and IgG2 and that low levels were found in more severe cases and in those caused by etiologies other than *S. pneumoniae* are in favor of the influence of infection itself. However, the correlation between absolute IgG levels and protection against infection is unknown. Also, the absolute level of antibodies measured at one time point may not simply be the important correlate with protection against infection, but rather whether there is an appropriate antibody response to an antigen challenge, which may remain intact even in individuals with absolute low IgG levels.

An interesting observation was that low serum immunoglobulin levels predominated in patients with CAP due to causative agents other than *S. pneumoniae*. Although a higher severity of CAP in relation to some causative bacteria, such as *S. pneumoniae* in contrast to *C. pneumoniae* [15] or viruses [12] has been reported, in a recent study of the severe pandemic influenza A (H1N1), severe H1N1 infection was associated with immunoglobulin IgG2 subclass deficiency, which appears to persist in a majority of patients [16]. These results are consistent with our study, in which low serum immunoglobulin levels at diagnosis of CAP seemed to be more frequent in viral than in bacterial infections and in patients without an identifiable etiology.

Patients requiring in-patient care showed lower immunoglobulin levels than those treated in the outpatient setting. Feldman et al. [17] also found a tendency of lower levels of immunoglobulins in critically ill patients versus less severely ill. In a pilot study of the time-course of gammaglobulin concentrations in 21 patients with septic shock, low concentrations of gammaglobulins, especially IgG, were common persisted over time even when sepsis

resolves. Despite similar presentation, patients with hypo-IgG had greater vasopressor requirements, were more likely to develop acute lung injury/acute respiratory distress syndrome, and had higher mortality [18]. The authors of this study conclude that patients with low IgG concentrations may represent a logical target group to study the effects of immunoglobulin supplementation in septic shock.

Neither the length of hospital stay nor the time from diagnosis to the return of the everyday activities was associated with serum immunoglobulin levels at any time of the episode of pneumonia. However, the fact that low levels of total IgG were significantly more frequent in patients who required hospital admission suggests some predictive value for prognosis.

Our observational study cannot differentiate if the low levels of immunoglobulins are a cause or a consequence of the CAP infection. In the first case, the previous immune deficit would favor the infection. In the second case, low immunoglobulin levels at the time of diagnosis of CAP may be related to an increase in consumption during the acute phase of the illness. Independently of this question, in the future, it may be contemplated the possibility to treat patients diagnosed of severe CAP with intravenous immunoglobulin [20]. This has been already carried out in some groups of patients with severe infection [21,22], in which a reduction of mortality has been achieved especially in children.

Finally, the presence of transient abnormalities may suggest defects in the immune response against the bacterial aggression, a fact that has not been assessed in this study but may be the objective of new hypotheses. In this respect, assessment of the ability to produce antibodies against specific antigens in patients with persistent low immunoglobulin levels following CAP may be of help to confirm the immune defect [19].

In conclusion, low serum levels of immunoglobulins particularly total IgG and IgG2 is a common finding in patients with CAP. Also, low immunoglobulin levels also may be related to CAP prognosis and persisted in the convalescent phase in one-fourth of cases.

Table 3 Relationship between changes of serum immunoglobulins from the acute phase to convalescence and prognostic factors of CAP.

Variables	IgG1 subclass				IgG2 subclass				Total IgG				Any immunoglobulin			
	Percentage of patients			P value	Percentage of patients			P value	Percentage of patients			P value	Percentage of patients			P value
	Normal-normal	Low-normal	Low-low		Normal-normal	Low-normal	Low-low		Normal-normal	Low-normal	Low-low		Normal-normal	Low-normal	Low-low	
Severity of CAP																
Outpatient care, n = 52	92.2	2.0	5.9	0.2	74.5	11.8	13.7	0.4	75.0	11.5	13.5	0.1	53.9	21.2	25.0	0.8
In-patient care, n = 58	84.5	10.3	5.2		72.4	19.0	8.6		56.9	24.1	19.0		50.0	25.9	24.1	
Etiologic diagnosis																
Not studied, n = 60	86.4	5.1	8.5	0.8	71.2	11.9	17.0	0.3	56.7	23.3	20.0	0.3	45.0	26.7	28.3	0.5
Bacterial, n = 33	87.9	9.1	3.0		75.8	21.2	3.0		69.7	12.1	18.2		54.6	21.2	24.2	
Viral, n = 12	91.7	8.3	0		66.7	25.0	8.3		83.3	16.7	0		58.3	25.0	16.7	
Mixed viral and bacterial, n = 5	100	0	0		100	0	0		100	0	0		100	0	0	
<i>Streptococcus pneumoniae</i> as etiology of CAP																
Yes, n = 19	89.5	5.3	5.3	1.0	100	0	0	0.01	89.5	5.3	5.3	0.08	84.2	5.3	10.5	0.009
No, n = 91	87.8	6.7	5.6		67.8	18.9	13.3		60.4	20.9	18.7		45.1	27.5	27.5	
<i>Chlamydia pneumoniae</i> as etiology of CAP																
Yes, n = 8	100	0	0	1.0	62.5	37.5	0	0.2	62.5	37.5	0	0.2	37.5	62.5	0	0.02
No, n = 102	87.1	6.9	5.9		74.3	13.9	11.9		65.7	16.7	17.7		52.9	20.6	26.5	

Acknowledgments

The authors are grateful to all participants in the **PACAP Study Group (Primary Care Centers)**: J. Costa, M. Tristany, M. J. Grau, S. Sancho, E. Miguel, M. Fradera, I. Ochoa, M. J. Castany and A. Quilez, Health Basic Area of Arenys (Institut Català de la Salut, ICS); V. Marina, P. Subias, B. Jimeno, A. Bradnovich, M. Rodriguez, E. Ramon, A. Gardella and C. Ginés, Health Basic Area of Canet de Mar and Sant Pol de Mar (ICS); J.C. Montero, P. Flores, P. Serra, E. Torrellas, I. Buxadé, J. Mussoll and M. Gomez, Health Basic Area of Cirera Molins (Consorti Sanitari del Maresme); X. Mestres, A. Armada, J. Mallafré, M. Roger, M.T. Gros, and N. Les, Health Basic Area of Ronda Cerdanya (ICS); J. Joanola, J. Doménech, M. Bundó, M. Trilla, J. Massons, J. Montero, and E. Zurilla, Health Basic Area of Ronda Prim (ICS); M. Alegre, M. Papiol, O. Martí, M. Catalá, M.A. Martinez, A. Casanovas and E. Diaz, Health Basic Area of Argentona (Consorti Sanitari del Maresme); P. Torán, M.M. Aizpurua, G. Lozano, J. Casals, J. Sorribes and D. Torrellas, Health Basic Area of Gatassa (ICS); A. Casas, J. Bernad, A. de Montoliu, J. Gaya, R. Vallés, A. Vazquez, R. Peiró, G. Aresté, GN. Mengual and M.C. Viñes, Health Basic Area of Vilassar de Mar (ICS); E. Almerich, M.A. Lopez, J. Bel, A. Gosalves, S. Macip, E. Carrillo, P. Paulo, M. Pol, J. Sala and P. Mir, Health Basic Area of Pineda (ICS); J. LL. Anglada, J. Salabarnada, E. Sanz, F. Gorgas, A. Ribas, E. Fau, I. Pellicer and S. Morales, Health Basic Area of Riera, Mataró (ICS); E. Burdoy, LL. Busquets, S. de Castro, M. Bartolomé, E. Corona, R. Valverde and Y. Verde, Health Basic Area of Mataró Centre, Mataró (Consorti Sanitari del Maresme); A. Borrás and F. Aznar (Centre Mèdic de Mataró, Mataró); and F. Riera, A. Vazquez and P. Gil (GEMA S. L., Mataró). J. Costa, I. Colom, E. Calvet, J. Nicolás, J. Ruiz, Health Basic Area of Lloret-Tossa (Corporació de Salut del Maresme i la Selva); *Hospital Centers*: O. Parra, Hospital del Sagrat Cor (Barcelona); F. Riera, Hospital de Barcelona (Barcelona); P. Tudela, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol (Badalona); R. Tarradas and M. Berrocal, Hospital Sant Jaume (Calella); E. Palomera, M. Serra-Prat, J. Bigas, M. Daza, J. Bassa, H. Peláez, J.M. Alonso, N. Planas, N. Del Rio, R. Martinez, and G. Miró, M. Solsona, Hospital de Mataró (Mataró).

The authors are also grateful to Marta Pulido, MD, for editing the manuscript and editorial assistance. The fees of medical editing were supported by Fundació Privada Salut del Consorci Sanitari del Maresme, Mataró, Barcelona, Spain.

Financial support: This work was supported by a grant (97/0718) from Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS), Madrid, Spain.

Conflicts of interest: None to be declared.

References

- [1] Woodhead MA, Macfarlane JT, McCracken JS, Rose DH, Finch RG. Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet* 1987;1:671–4.
- [2] Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H, et al. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 1993;137:977–88.
- [3] Almirall J, Casado M, Valls F, et al. Estudio prospectivo de las neumonías extrahospitalarias atendidas en un hospital general. Error diagnóstico. *Med Clin (Bar)* 1991;97:250–4.
- [4] Ausina V, Coll P, Sambeat M, et al. Prospective study on the etiology of community-acquired pneumonia in children and adults in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1988;7:342–7.
- [5] Oseasohn R, Skipper BE, Tempest B. Pneumonia in a Navajo community: a two-year experience. *Am Rev Respir Dis* 1978;117:1003–9.
- [6] Ekdahl K, Branconier JH, Roloff J. Recurrent pneumonia: a review of 90 adult patients. *Scand J Infect Dis* 1992;24:71–6.
- [7] International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies. Primary immunodeficiencies: 2009 update. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:31161–78.
- [8] Almirall J, Bolibar I, Balanzó X, González CA. Risk factors for community-acquired pneumonia in adults: a population-based case-control study. *Eur Respir J* 1999;13:349–55.
- [9] Almirall J, Bolibar I, Vidal J, et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *Eur Respir J* 2000;15:757–63.
- [10] De Gracia J, Rodrigo MJ, Morell F, et al. IgG subclass deficiencies associated with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:650–5.
- [11] Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997;336:243–50.
- [12] Herer B, Labrousse F, Mordelet-Dambrine M, et al. Selective IgG subclass deficiencies and antibody responses to pneumococcal capsular polysaccharide antigen in adult community-acquired pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:5854–7.
- [13] Hukuhara H, Shigeno Y, Saito A. Serum levels of healthy adult humans and changes of IgG subclass levels between infected and convalescent phase in respiratory infections. *Kansenshogaku Zasshi* 1991;65:564–70.
- [14] Söderström T, Söderström R, Andersson R, Lindberg J, Hanson LA. Factors influencing IgG subclass levels in serum and mucosal secretions. *Monogr Allergy* 1988;23:236–43.
- [15] Torres A, El-Ebiary M, Ruiz M, Riquelme R, Angrill J. Severe community-acquired pneumonia. *Clin Intensive Care* 1997;8:69–75.
- [16] Gordon CL, Johnson PDR, Permezel M, et al. Association between severe pandemic 2009 influenza A(H1N1) virus infection and immunoglobulin G2 subclass deficiency. *Clin Infect Dis* 2010;50:672–8.
- [17] Feldman C, Mahomed AG, Mahida P, et al. IgG subclasses in previously healthy adult patients with acute community-acquired pneumonia. *S Afr Med J* 1996;86:600–2.
- [18] Taccone FS, Stordeur P, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Gammaglobulin levels in patients with community-acquired septic shock. *Shock* 2009;32:379–85.
- [19] Rodrigo MJ, Vendrell M, Cruz MJ, et al. Utility of the antibody response to a conjugated *Haemophilus influenzae* type b vaccine for diagnosis of primary humoral immunodeficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1462–5.
- [20] Turgeon AF, Hutton B, Fergusson DA, et al. Meta-analysis: intravenous immunoglobulin in critically ill adult patients with sepsis. *Ann Intern Med* 2007;146:193–203.
- [21] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2008;36:296–327.
- [22] Leong H, Stachnik J, Bonk ME, Matuszewski KA. Unlabeled uses of intravenous immune globulin. *Am J Health Syst Pharm* 2008;65:1815–24.

Serum levels of immunoglobulins and severity of community-acquired pneumonia

Mari C. de la Torre, Pere Torán, , Mateu Serra-Prat, Elisabet Palomera, Montserrat Bartrolí, Adrià Albís, Estel Güell, Joan Carles Yébenes, Antoni Torres, Jordi Almirall

From the Critical Care Unit (Mari C de la Torre, Adrià Albís, Estel Güell, Joan Carles Yébenes and Jordi Almirall), Hospital de Mataró, Universitat Autònoma de Barcelona, Ciber Enfermedades Respiratorias, CIBERES, Barcelona; Unitat Suport Recerca Metropolitana Nord ICS, (Pere Torán) Santa Coloma de Gramanet, Barcelona; Research Unit (Mateu Serra-Prat and Elisabeth Palomera), Hospital de Mataró, CIBEREHD, Barcelona; Department of Biochemistry (Montserrat Bartrolí), Hospital de Mataró, Universitat Autònoma de Barcelona, Mataró, Barcelona; and Service of Pneumology (Antoni Torres), Institut Clínic del Torax, IDIBAPS, Hospital Clínic de Barcelona, Universitat de Barcelona, CIBERES, Barcelona, Spain.

MC de la Torre, e-mail: mctorre@csdm.cat
Pere Torán: ptoran.bnm.ics@gencat.cat
E. Palomera, e-mail: epalomera@csdm.cat
M. Serra-Prat, e-mail: mserra@csdm.cat
M. Bartrolí, e-mail: mbartrolí@csdm.cat
A. Albís, e-mail: aalbis@csdm.cat
Estel Güell, e-mail: eguell@csdm.cat
JC Yébenes, e-mail: jyebenes@csdm.cat
A. Torres, e-mail: atorres@clinic.ub.es
J. Almirall, e-mail: jalmirall@csdm.cat

Corresponding author: Jordi Almirall, MD, PhD, Critical Care Unit, Hospital de Mataró, Carretera de la Cirera s/n, E-08304 Mataró, Barcelona, Spain. Tel.: +34-93-7417747, fax: +34-93-7417770, e-mail: jalmirall@csdm.cat

Contributions: Conceived and design the study: Mari C. de la Torre, Pere Torán, Jordi Almirall, Mateu Serra-Prat; performed the experiments: Mari C. de la Torre, Pere Torán, Jordi Almirall, Montserrat Bartrolí, Adrià Albís, Estel Güell, Joan Carles Yébenes; analyzed the data: Elisabet Palomera, Mateu Serra-Prat, Mari C. de la Torre, Pere Torán, Joan Carles Yébenes, Jordi Almirall; wrote the manuscript: Mari C. de la Torre, Jordi Almirall, Mateu Serra-Prat, Joan Carles Yébenes, Antoni Torres; approval of the final draft: all authors.

Sources of support: This work was supported by a grant (08/ PI 090448) from Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) and CIBER de Respiratorio (06/06/0028), Madrid, Spain and a grant from "Fundació Salut del Consorci Sanitari del Maresme".

Short running head: Serum immunoglobulins and severity of CAP.

Descriptor number: 10.12. Pneumonia: Bacterial infections.

Total word count for the body of the manuscript: 2467.

Total word count for the abstract: 250.

“At a Glance Commentary”

Scientific Knowledge on the Subject: Community-acquired pneumonia (CAP) remains one of the infectious diseases with the highest morbidity and mortality. There is evidence of the relationship between severity of infection and inflammatory response of the immune system. The objective of this study was to provide data on the contribution of low serum levels of immunoglobulins to the severity and outcome of CAP.

What This Study Adds to the Field: Low levels of immunoglobulins were particularly evident in CAP patients with severe disease requiring care in the intensive care unit (ICU). These showed lower levels of circulating immunoglobulins especially total IgG, IgG1, and IgG2 subclasses than patients treated in the outpatient setting and patients treated in the hospital wards (non-ICU patients) and that this immunologic deficiency is related with an increased mortality.

Abstract (word count 250)

Rationale: There is evidence of the relationship between severity of infection and inflammatory response of the immune system.

Objectives: To assess serum levels of immunoglobulins and to establish its relationship with severity of community-acquired pneumonia (CAP) and clinical outcome.

Methods: This was an observational and cross-sectional study in which three groups of patients diagnosed with CAP were compared: patients treated in the outpatient setting ($n = 54$), patients requiring in-patient care (hospital ward) ($n = 173$), and patients requiring admission to the intensive care unit (ICU) ($n = 191$).

Measurements and Main Results: Serum total IgG (and IgG subclasses IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA, and IgM were measured at the first clinical visit. Normal cutpoints were defined as the lowest value obtained in controls (≤ 680 , ≤ 323 , ≤ 154 , ≤ 10 , ≤ 5 , ≤ 30 , and ≤ 50 mg/dL for total IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, and IgA, respectively). Serum immunoglobulin levels decreased in relation to severity of CAP. Low serum levels of total IgG, IgG1, and IgG2 showed a relationship with ICU admission. Low serum level of total IgG was independently associated with ICU admission (OR = 2.45, 95% CI 1.4 to 4.2, $P = 0.002$), adjusted by CURB-65 severity score and comorbidities (chronic respiratory and heart diseases). Low levels of total IgG, IgG1, and IgG2 were significantly associated with 30-day mortality.

Conclusions: Patients with severe CAP admitted to the ICU showed lower levels of circulating immunoglobulins than non-ICU patients and this immunologic deficiency is associated with an increased mortality.

INTRODUCTION

Community-acquired pneumonia (CAP) remains one of the infectious diseases with the highest morbidity and mortality. In the general adult population, the annual incidence of CAP varies between 1.6 and 13.4 cases per 1000 inhabitants, and hospitalization rates range between 22% and 61.4%.^{1,2} Approximately 10% of hospitalized patients require admission to the intensive care unit (ICU).³ The mortality rate varies between 0.1 and 0.7 per 1000 persons-year.¹⁻⁵

There is evidence of the relationship between severity of infection and inflammatory response of the immune system.^{6,7} Immunoglobulins (IgG subclasses) are particularly effective in the identification, neutralization, opsonization and direct lysis of pathogens as well as activation of the complement cascade. Due to these specific functions, immunoglobulins are postulated as new therapies, already used in the treatment of primary humoral immunodeficiency,⁸⁻¹¹ autoimmune diseases,¹¹ and neonatal streptococcal septic shock.¹² Treatment with intravenous immunoglobulin (IVIG) is a promising adjunctive therapy for severe sepsis and septic shock, but its use remains controversial, although an overall mortality benefit has been reported in small studies.¹³

It is well known that deficit in immunoglobulin production especially IgG in primary immunodeficiencies causes an increase of infections, in particular by encapsulated pathogens of the upper (sinusitis, tracheobronchitis) or lower (pneumonia) respiratory tract. However, there is little information on changes of serum levels of immunoglobulins in previously healthy subjects diagnosed with pneumonia. Therefore, a cross-sectional study in patients with CAP was conducted, the aim of which was to assess serum levels of immunoglobulins and to establish a relationship with severity of pneumonia and clinical outcome.

METHODS

Design and Setting

This was an observational and cross-sectional study in which three groups of patients diagnosed with CAP were compared. The diagnosis of CAP was based on acute lower respiratory tract infection with the appearance of focal signs on physical examination of the chest and new radiologic findings suggestive of pulmonary infiltrate.^{1,2} The three study populations were patients with CAP treated at home, patients with CAP requiring in-patient care, and patients with CAP requiring admission to the intensive care unit (ICU).¹⁴ All patients gave written consent to draw blood samples for the immunologic study on the first day of the patient-physician encounter.

Exclusion criteria and other study details, including data collected for each patient are described in the online data supplement.

Prognostic data included were septic shock, defined by persistent hypotension despite fluid replacement therapy associated with signs of hypoperfusion, and 30-day mortality. Severity of CAP at the first evaluation of the patient was estimated using the CURB-65 severity score.¹⁵

Immunologic Study

Blood samples were obtained from all patients during the first contact with the physician and at the time of diagnosis of CAP, and were stored at -80°C until analysis. Serum total IgG (and IgG subclasses IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgA, and IgM were measured by nephelometry.¹⁶ Because a standard criteria regarding normal values of immunoglobulins are lacking, reference values were those obtained in a control group of the same population.¹⁷ In patients with CAP, normal cutpoints for serum concentration of immunoglobulins or IgG subclasses was defined as the lowest value

obtained in controls, which were 680 mg/dL for IgG, 323 mg/dL for IgG1, 154 mg/dL for IgG2, 10 mg/dL for IgG3, 5 mg/dL for IgG4, 30 mg/dL for IgM, and 50 mg/dL for IgA. Hypogammaglobulinemia was defined as a serum IgG level < 500 mg/dL.¹⁸

Statistical Analysis

Immunoglobulin levels in each of the three study groups (ambulatory CAP, hospitalized patients with CAP, patients with CAP admitted to the ICU) were expressed as median and interquartile range (25th-75th percentile) and also categorized as low (deficient) or normal levels according to the cutpoints for serum levels of immunoglobulins and IgG subclasses. Ambulatory CAP patients or those requiring in-patient care were grouped in a single category of non-ICU CAP patients in order to compare this category with CAP patients admitted to the ICU. All factors associated with low serum levels of immunoglobulins were analysed. Means were compared with the analysis of variance (ANOVA) or the Kruskal-Wallis test (three groups) or the Student's *t* test or the Mann-Whitney U test (two groups). The Spearman correlation coefficient (r_s) was used to assess the relationship between continuous variables. The effect of serum levels of immunoglobulins on ICU admission was assessed in a logistic regression analysis, and the odds ratio (OR) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated. The model was adjusted by confounding variables associated to both serum levels of immunoglobulins and ICU admission. Statistical significance was set at $P < 0.05$. The SPSS program (version 11.0) was used for data analysis.

RESULTS

Study Population and Baseline Characteristics

A total of 876 patients diagnosed with CAP were enrolled and classified into the groups of ambulatory CAP ($n = 246$), CAP requiring hospitalization ($n = 244$), and CAP requiring care in the ICU ($n = 386$). However, 458 (52.3%) patients were excluded in most cases ($n = 374$) because of blood samples on the day of CAP diagnosis were unavailable. The flow chart of the study population is shown in Figure 1. The three study groups included 54 CAP patients treated in the outpatient setting, 173 admitted to the hospital, and 191 admitted to the ICU. Baseline characteristics of the patients are shown in Table 1.

Serum Immunoglobulin Levels

As shown in Table 2, serum immunoglobulin levels decreased in relation to severity of CAP, that is, patients requiring ICU admission showed significantly lower values of all IgG subclasses and IgA as compared with CAP patients treated in the outpatient setting or admitted to the hospital. Serum immunoglobulins except for total IgG were higher in ambulatory CAP as compared with hospitalized patients, and hospitalized patients also showed higher levels as compared with patients admitted to the ICU.

The correlation between serum immunoglobulin levels and days with symptoms prior to medical diagnosis of CAP showed a significant and positive correlation between IgG2 levels and days with symptoms in patients not requiring ICU admission ($r_s = 0.145$, $P = 0.035$), whereas in patients admitted to the ICU there was a negative correlation between days of previous symptoms and serum levels of total IgG ($r_s = -0.216$, $P = 0.003$), IgG1 ($r_s = 0.201$, $P = 0.005$), and IgG2 ($r_s = -0.175$, $P = 0.016$).

Low Serum Immunoglobulin Levels

As shown in Table 3, low serum levels of total IgG, IgG1, and IgG2 (according to the reference values) showed a relationship with ICU admission. Differences in the percentage of patients with low immunoglobulin levels between those treated in the outpatient setting and those admitted to the hospital ward were not observed. However, there was a statistically significant association between low levels of total IgG and IgG1 and higher values in the CURB-65 severity score (Table 4). All patients with CURB-65 severity score of 4 and 5 were admitted to the ICU.

In the multivariate analysis, low serum level of total IgG was independently associated with ICU admission (OR = 2.45, 95% CI 1.4 to 4.2, $P = 0.002$), adjusted by CURB-65 severity score and comorbidities (chronic respiratory and heart diseases) (Table 5).

30-Day Mortality

Of the 418 patients with CAP, 48 (11.5%) died within 30 days after diagnosis. In relation to the CURB-65 severity score, the mortality rate was 100% for patients with score 5, 28.6% for score 4, 20.6% for score 3, 18.7% for score 2, and only 2.2% for score 1. Admission to the hospital and to the ICU were both associated with mortality. Also, low levels of total IgG, IgG1, and IgG2 were significantly related to fatality (Figure 2). Patients with hypogammaglobulinemia (total IgG < 500 mg/dL) ($n = 23$) also showed a significantly higher mortality rate than the remaining patients ($P = 0.079$).

DISCUSSION

To our knowledge this is the first study in which serum levels of immunoglobulins were measured in patients with CAP divided according to severity of pneumonia. We have observed that if the CAP is more severe, there is a lower concentration of IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4 subclasses as well as IgA. In fact, patients requiring ICU admission as compared to those not treated in the ICU showed lower levels of circulating IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, and IgA. Because no differences in serum concentrations of immunoglobulins between patients treated ambulatorily and patients treated in the hospital ward were observed, it seems that low immunoglobulin levels may occur exclusively in patients with severe CAP, and that low values of total IgG in the acute phase of CAP is an independent prognostic factor for ICU admission.

Although factors influencing the outcome of pneumonia have been extensively investigated, the potential effect of low immunoglobulin levels on mortality in CAP remains unclear. This study shows that high CURB-65 scores or requiring in-patient care and ICU admission are factors associated with a higher mortality. Moreover, it has been observed that low levels of total IgG, IgG1, and IgG2 at the onset of CAP are indicator of a higher severity and an increased in mortality.

A few studies have assessed changes of serum immunoglobulin levels in pneumonia. Feldman et al.¹⁹ measured IgG levels in 66 patients with CAP, 19 of which requiring ICU admission, and found abnormal levels (increase or decrease) in the IgG subclasses but without differences between ICU and non-ICU patients. These findings may be probably explained by the small number of patients in both groups, particularly critically ill patients. In the present study, serum immunoglobulin levels were measured in a large study sample of 418 patients with CAP, which allowed stratification into two large subsets of 227 no requiring ICU admission and 191 severely ill patients treated in

the ICU. We found significant differences in the four IgG subclasses, with lower values among ICU patients. In contrast to findings in the study of Feldman et al.,¹⁹ we found that low levels of total IgG, IgG1, and IgG2 maybe prognostic factors of mortality and are more frequently observed in ICU patients. In 1990, Herer et al.²⁰ reported that serum levels of IgG2 in patients with CAP ($n = 38$) of bacterial or unknown etiology were lower than in healthy subjects ($n = 26$), remaining low nine months later. A comparison with healthy subjects was not made in our study. However, in a previous population-based case-control study, with 171 cases and 90 controls matched by age and sex, all immunoglobulins were significantly lower in cases than in controls, mainly total IgG and IgG2.¹⁷ In contrast to the study of Herer et al.,²⁰ 80% of patients normalized immunologic levels in the convalescent phase (after 30 days).

Similar results have been obtained in the studies of Gordon et al.^{21,22} in which a decrease in serum levels of total IgG, IgG1, and IgG2 in CAP patients with severe influenza H1N1 virus pneumonia as well in the remaining patients with severe noninfluenza CAP. Although Gordon et al.^{21,11} established an association between acute low values of IgG2 and severe infection by influenza H1N1 virus, they could not determine whether this was due to the virus itself or to other factors of severity. In the present study, low levels of total IgG (below the reference cutoff value) was an independent risk factor for ICU admission in the logistic regression analysis as so was the CURB-65 severity score.

Clearly there is a low levels of serum immunoglobulins in patients with more severe CAP but the reason for these low concentrations is unknown. Hukuhara et al.²³ suggested that IgG2 are consumed at the infected phase by protecting against bacterial infections. In our study, CAP patients admitted to the ICU despite being visited by physicians earlier than those not requiring ICU admission, showed lower IgG2 levels.

Also, a greater delay in diagnosis was associated with a higher decrease of this IgG subclass. Regardless of the underlying mechanism responsible for the low levels of immunoglobulins, according to the present findings, patients with decreases in total IgG and IgG1, as well as IgG2, have a threefold and twofold increased risk of ICU admission, respectively, than patients with normal levels. Low levels of total IgG were found in 20.9% of patients who died as compared with 8% of survivors. These results suggest that we should continue the investigation of the target subgroup of CAP patients where the use of IVIG as adjunctive treatment during the acute phase of the disease may improve outcome and reduce mortality.

Data supporting the use of IVIG remains controversial. Werdan et al.²⁴ in a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial (the SBITS study), the administration of intravenous monoclonal immunoglobulin G did not reduce 28-day mortality in patients with sepsis. However, studies with polyclonal IVIG have shown a reduction of mortality, with a trend in favour of immunoglobulin preparations enriched with IgM.^{25,26} Data of systematic reviews and meta-analyses provided evidence of the effect of polyclonal IVIG to reduce mortality in patients with severe sepsis or septic shock.²⁷⁻²⁹ Studies are needed to confirm whether these promising results are applicable to patients with sepsis caused by pneumonia.

This is the first study of a large CAP population in which immunologic status was evaluated. Also, three different levels of CAP severity according to the level of care and CURB-65 severity score were separately assessed, showing that hypogammaglobulinemia may be postulated as a prognostic factor only in critically ill patients with CAP, with an increase in mortality in the presence of low serum immunoglobulin levels. The analysis of the major immunoglobulins and IgG subclasses, allowed us to identify that the IgG group especially IgG1 and IgG2 subtypes were those

related to prognosis of CAP. Some limitations should be mentioned. Despite strict exclusion criteria it is unknown whether some patients with low immunoglobulin levels may have had some immunodeficiency disease still undiagnosed. The lack of follow-up during the convalescent phase does not allow distinguishing patients with acquired immunodeficiency caused by CAP from those with deficient immunologic status at baseline. On the other hand, although all CAP patients requiring ICU admission were included in the study, patients with less severe disease mainly those treated as outpatients may be well underrepresented given that physicians not always ordered a chest X-ray to establish the diagnosis of CAP, or considered necessary to draw a blood sample to assess the immunologic status in the first day of consultation.

In summary, this study shows that patients with severe CAP admitted to the ICU showed lower levels of circulating immunoglobulins than non-ICU patients and that this immunologic deficiency is associated with a higher mortality. There is evidence from the literature that treatment with IVIG reduces mortality in patients with severe sepsis. Both findings require future studies to define the group of patients with severe CAP in which IVIG treatment may be of benefit.

Acknowledgments

We thank Marta Pulido, MD, for editing the manuscript and editorial assistance.

REFERENCES

1. Almirall J, Bolibar I, Vidal J, Sauca G, Coll P, Niklasson B, Bartolomé M, Balanzó X. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *Eur Respir J* 2000;15:757-763.
2. Woodhead MA, Macfarlane JT, McCracken JS, Rose DH, Finch RG. Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet* 1987;2:671-674.
3. Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H, Kallinen S, Karkola K, Korppi M, Kurki S, Rönberg PR, Seppä A, Soimakallio S. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 1993;137:977-988.
4. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, Bartlett JG, Campbell GD, Dean NC, Dowell SF, File TM Jr, Musher DM, Niederman MS, Torres A, Whitney CG. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis* 2007;44:S27-S72.
5. Marshall JC. Sepsis: current status, future prospects. *Curr Opin Crit Care* 2004;10:250-264.
6. Meijvis SCA, van de Garde EMW, Rijkers GT, Bos WJW. Treatment with anti-inflammatory drugs in community-acquired pneumonia. *J Intern Med* 2012;272:25-35.
7. Fernandez-Serrano S, Dorca J, Coromines M, Carratala J, Gudiol F, Manresa F. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:813-820.

8. Lucas M, Lee M, Lortan J, Lopez-Granados E, Misbah S, Chapel H. Infection outcomes in patients with common variable immunodeficiency disorders: relationship to immunoglobulin therapy over 22 years. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:1354-1360.
9. Skull S, Kemp A. Treatment of hypogammaglobulinaemia with intravenous immunoglobulin, 1973–93. *Arch Dis Child* 1996;74:527-530.
10. de Gracia J, Vendrell M, Alvarez A, Pallisa E, Rodrigo MJ, de la Rosa D, Mata F, Andreu J, Morell F. Immunoglobulin therapy to control lung damage in patients with common variable immunodeficiency. *Int Immunopharmacol* 2004;4:745-753.
11. Orange JS¹, Hossny EM, Weiler CR, Ballou M, Berger M, Bonilla FA, Buckley R, Chinen J, El-Gamal Y, Mazer BD, Nelson RP Jr, Patel DD, Secord E, Sorensen RU, Wasserman RL, Cunningham-Rundles C. Use of intravenous immunoglobulin in human disease: a review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117(4 Suppl):S525-S553.
12. Kaul R, McGeer A, Norrby-Teglund A, Kotb M, Schwartz B, O'Rourke K, Talbot J, Low DE. Intravenous immunoglobulin therapy for streptococcal toxic shock syndrome--a comparative observational study. The Canadian Streptococcal Study Group. *Clin Infect Dis* 1999;28:800-807.
13. Hartung HP, Mouthon L, Ahmed R, Jordan S, Laupland KB, Jolles S. Clinical applications of intravenous immunoglobulins (IVIg)--beyond immunodeficiencies and neurology. *Clin Exp Immunol* 2009;158 Suppl1:23-33.
14. Alfageme I, Aspa J, Bello S, Blanquer J, Blanquer R, Borderías L, Bravo C, de Celis R, de Gracia X, Dorca J, Gallardo J, Gallego M, Menéndez R, Molinos L, Paredes C, Rajas O, Rello J, Rodríguez de Castro F, Roig J, Sánchez-Gascón F,

- Torres A, Zalacaín R; Grupo de Estudio de la Neumonía Adquirida en la Comunidad. Area de Tuberculosis e Infecciones Respiratorias (TIR)-SEPAR. Guidelines for the diagnosis and management of community-acquired pneumonia. Spanish Society of Pulmonology and Thoracic Surgery (SEPAR). *Arch Bronconeumol* 2005;41:279-289.
15. BTS Guidelines for the Management of Community Acquired Pneumonia in Adults. *Thorax* 2001;56 Suppl 4:IV1-IV64.
 16. Whicher JT, Price CP, Spencer K. Immunonephelometric and immunoturbidimetric assays for proteins. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1983;18 :213-260.
 17. de la Torre MC, Bolívar I, Vendrell M, de Gracia J, Vendrell E, Rodrigo MJ, Boquet X, Torreadella P, Yébenes JC, Serra-Prat M, Rello J, Torres A, Almirall J. Serum immunoglobulins in the infected and convalescent phases in community-acquired pneumonia. *Respir Med* 2013;107:2038-2045.
 18. De Gracia J, Rodrigo MJ, Morell F, Vendrell M, Miravittles M, Cruz MJ, Codina R, Bofill JM. IgG subclass deficiencies associated with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:650-655.
 19. Feldman C, Mahomed AG, Mahida P, Morar R, Schoeman A, Mpe J, Burgin S, Kuschke RH, Wadee A. IgG subclasses in previously healthy adult patients with acute community-acquired pneumonia. *S Afr Med J* 1996;86:600-602.
 20. Herer B, Labrousse F, Mordelet-Dambrine M, Durandy A, Offredo-Hemmer C, Ekindjian O, Chretien J, Huchon G. Selective IgG subclass deficiencies and antibody responses to pneumococcal capsular polysaccharide antigen in adult community-acquired pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:854-857.
 21. Gordon CL, Johnson PD, Permezel M, Holmes NE, Gutteridge G, McDonald CF, Eisen DP, Stewardson AJ, Edington J, Charles PG, Crinis N, Black MJ, Torresi J,

- Grayson ML. Association between severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection and immunoglobulin G(2) subclass deficiency. *Clin Infect Dis* 2010; 50:672-678.
22. Gordon CL, Holmes NE, Grayson ML, Torresi J, Johnson PD, Cheng AC, Charles PG. Comparison of immunoglobulin G subclass concentrations in severe community-acquired pneumonia and severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) infection. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19:446-448.
23. Hukuhara H, Shigeno Y, Saito A. Serum levels of healthy adult humans and changes of IgG subclass levels between infected and convalescent phase in respiratory infections. *Kansenshogaku-Zasshi* 1991;65:564-570.
24. Werdan K, Pilz G, Bujdoso O, Fraunberger P, Neeser G, Schmieder RE, Viell B, Marget W, Seewald M, Walger P, Stuttmann R, Speichermann N, Peckelsen C, Kurowski V, Osterhues HH, Verner L, Neumann R, Müller-Werdan U. Score-based immunoglobulin G therapy of patients with sepsis: the SBITS study. *Crit Care Med* 2007;35:2693-2701.
25. Pildal J, Gotzsche PC. Polyclonal immunoglobulin for treatment of bacterial sepsis: a systematic review. *Clin Infec Dis* 2004;39:38-46.
26. Kreymann KG, de Heer G, Nierhaus A, Kluge S. Use of polyclonal immunoglobulines as adjunctive therapy for sepsis or septic shock. *Crit Care Med* 2007;35:2677-2685.
27. Alejandria MM, Langsang MA, Dans LF, Mantaring JB. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev* 2002(1): CD001090.

28. Turgeon AF, Hutton B, Fergusson DA, McIntyre L, Tinmouth AA, Cameron DW, Hébert PC. Meta-analysis: intravenous immunoglobulin in critically ill adult patients with sepsis. *Ann Intern Med* 2007;146:193-203.
29. Laupland KB, Kirkpatrick AW, Delaney A. Polyclonal intravenous immunoglobulin for the treatment of severe sepsis and septic shock in critically ill adults: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2007;35:2686-2692.

Table 1. Baseline characteristics of the study population according to site of care

Variables	Site of care of CAP patients				<i>P</i> value three study groups	<i>P</i> value ICU vs. non-ICU groups
	Ambulatory	Hospital ward	ICU	Non-ICU		
Total patients	54	173	191	227		
Male patients	42 (77.8)	112 (64.7)	136 (71.2)	154 (67.8)	0.146	0.457
Age, years, mean (SD)	51.1 (18.8)	71.1 (15.6)	60.1 (17.4)	66.3 (18.5)	<0.001	<0.001
Alcohol consumption	7 (14)	8 (4.8)	30 (15.7)	15 (6.9)	0.003	0.004
Smoking habit	14 (28)	27(16.1)	67 (35.1)	41 (18.8)	<0.001	<0.001
Chronic respiratory disease	12 (24)	100 (59.2)	73 (38.2)	112 (51.1)	<0.001	0.009
Chronic heart disease	6 (12)	76 (45)	42 (22)	82 (37.4)	<0.001	0.001
Diabetes mellitus	2 (4)	41(24.3)	44 (23)	43(19.6)	0.006	0.401
Chronic neurologic disorders	5 (10)	29 (17.2)	19 (9.9)	34 (15.5)	0.101	0.093
Chronic renal failure	1 (2)	8 (4.7)	7 (3.7)	9 (4.1)	0.663	0.817
Past solid neoplasm	1 (2)	10 (5.9)	4 (2.1)	11 (5.0)	0.125	0.115
Oral corticosteroids	5 (10)	30 (17.8)	8 (4.2)	35 (16.0)	<0.001	<0.001
Previous symptoms, days, mean (SD)	7.6 (5.6)	4.5 (5.3)	3.5 (2.9)	5 (5.5)	<0.001	0.069
Shock	0	0	88 (46.1)	0	<0.001	<0.001
Death	0	5 (2.9)	43 (22.5)	5 (2.2)	<0.001	<0.001

Data as frequencies and percentages in parenthesis unless otherwise stated.

Table 2. Differences of serum levels of immunoglobulins in patients with CAP according to the site of care in the first day of medical consultation

Serum levels of immunoglobulins mg/dL	Site of care of CAP patients				P value three study groups	P value ICU vs. non-ICU groups
	Ambulatory (n = 54)	Hospital ward (n = 173)	ICU (n = 191)	Non-ICU (n = 227)		
IgG, total	1110 (889-1350)	986.5 (768.5-1175)	908 (682-1300)	1010 (810-1210)	0.035	0.081
IgG1	673 (557-815)	608.5 (493.5-767.5)	541 (401-766)	623 (504-772)	0.009	0.005
IgG2	339 (239-506)	318 (209-430.5)	270.5 (162-369)	323.5 (221-447)	< 0.001	< 0.001
IgG3	60.8 (43.1-80)	61.3 (43.5-85.4)	43.1 (29-70)	61.3 (43.4-83.3)	< 0.001	< 0.001
IgG4	46.8 (27.7-103)	43.3 (18.6-74.5)	28.5 (15-58)	44.7 (21.4-80.9)	0.001	0.001
IgA	233 (160-342)	254 (186-333)	221.5 (132-310)	249 (184-340)	0.018	0.008
IgM	107 (58-162)	76.5 (53-121)	83 (58-117)	81 (54-129)	0.032	0.705

Data as median and interquartile range (25th-75th percentile) in parenthesis.

Table 3. Patients with CAP and low levels of serum immunoglobulins according to the site of care

Low levels of serum immunoglobulins mg/dL (cutpoints)	Site of care of CAP patients				<i>P</i> value three study groups	<i>P</i> value ICU vs. non-ICU groups	Odds ratio (95% CI)
	Ambulatory (n = 54)	Hospital ward (n = 173)	ICU (n = 191)	Non-ICU (n = 227)			
IgG, total (≤ 680)	7 (13)	33 (19.1)	75 (39.3)	40 (17.6)	< 0.001	< 0.001	3.03 (1.94-4.75)
IgG1 (≤ 323)	3 (5.6)	13 (7.5)	41 (21.5)	16 (7.1)	< 0.001	< 0.001	3.59 (1.94-6.63)
IgG2 (≤ 154)	8 (14.8)	31 (17.9)	52 (27.2)	39 (17.2)	< 0.04	< 0.013	1.8 (1.13-2.89)
IgG3 (≤ 10)	1 (1.9)	0	5 (2.6)	1 (0.4)	0.108	0.098	6.05 (0.7-52.2)
IgG4 (≤ 5)	3 (5.6)	7 (4.0)	5 (2.6)	10 (4.4)	0.544	0.328	0.58 (0.2-1.74)
IgA (≤ 50)	1 (2.0)	4 (2.3)	7 (3.7)	5 (2.2)	0.683	0.389	1.60 (0.81-3.17)
IgM (≤ 30)	3 (5.6)	13 (7.5)	21 (11.0)	16 (7.1)	0.366	0.173	1.66 (0.52-5.32)

Data as frequencies and percentages in parenthesis.

Table 4. Association between low serum levels of immunoglobulins and CURB-65 score

Immunoglobulins cutpoints, mg/dL	CURB-65 severity score						<i>P</i> value
	0 (<i>n</i> = 71)	1 (<i>n</i> = 137)	2 (<i>n</i> = 124)	3 (<i>n</i> = 68)	4 (<i>n</i> = 14)	5 (<i>n</i> = 4)	
IgG, total (≤ 680)	14 (19.7)	29 (21.2)	36 (29.0)	28 (41.2)	5 (35.7)	3 (75)	0.005
IgG1 (≤ 323)	6 (8.5)	11 (8)	17 (13.7)	18 (26.5)	3 (21.4)	2 (50)	0.001
IgG2 (≤ 154)	11 (15.5)	30 (21.9)	22 (17.7)	23 (33.8)	4 (28.6)	1 (25)	0.113
IgG3 (≤ 10)	1 (1.4)	2 (1.5)	2 (1.6)	1 (1.5)	0	0	0.998
IgG4 (≤ 5)	5 (7)	2 (1.5)	6 (4.8)	2 (3)	0	0	0.353
IgA (≤ 50)	2 (2.8)	4 (2.9)	2 (1.6)	3 (4.4)	1 (7.1)	0	0.820
IgM (≤ 30)	4 (5.6)	9 (6.6)	12 (9.7)	10 (14.7)	2 (14.3)	0	0.331

Data as frequencies and percentages in parenthesis.

Table 5. Effect of low levels of serum IgG levels adjusted by independent risk factors on ICU admission

Variable	Odds ratio (95% confidence interval)	<i>P</i> value
Low level of total IgG (≤ 680 mg/dL)	2.45 (1.4-4.2)	0.002
CURB-65 severity score	4.62 (3.33-6.4)	< 0.001
Chronic heart disease	0.22 (0.12-0.4)	< 0.001
Chronic respiratory disease	0.29 (0.17-0.51)	< 0.001

LEGENDS

Figure 1. Flow-chart of the study population.

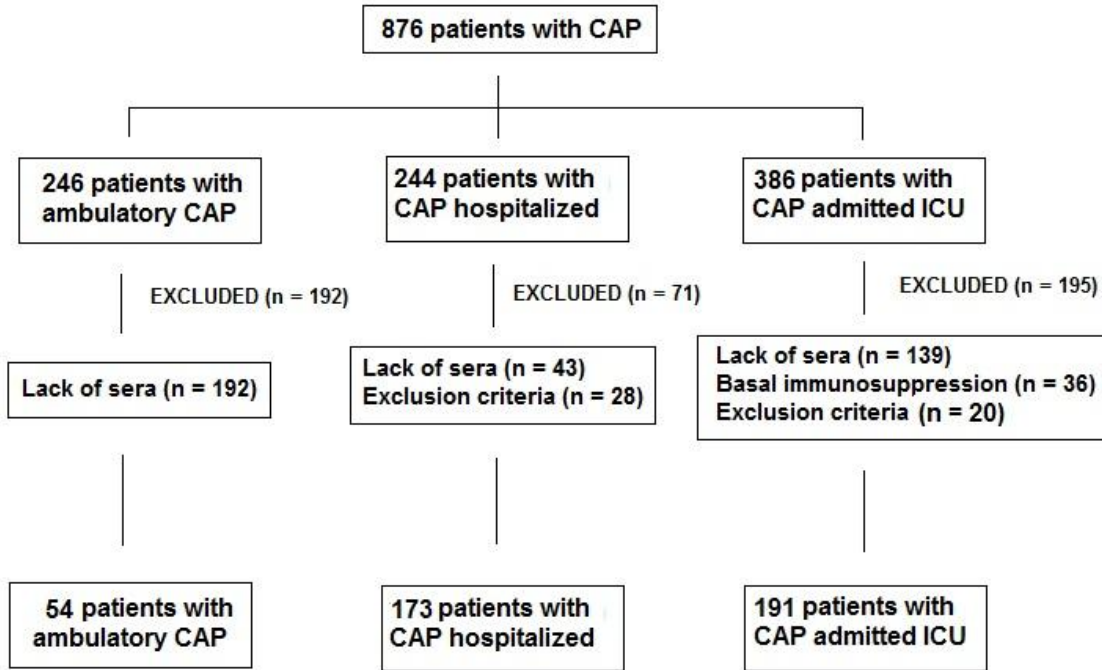
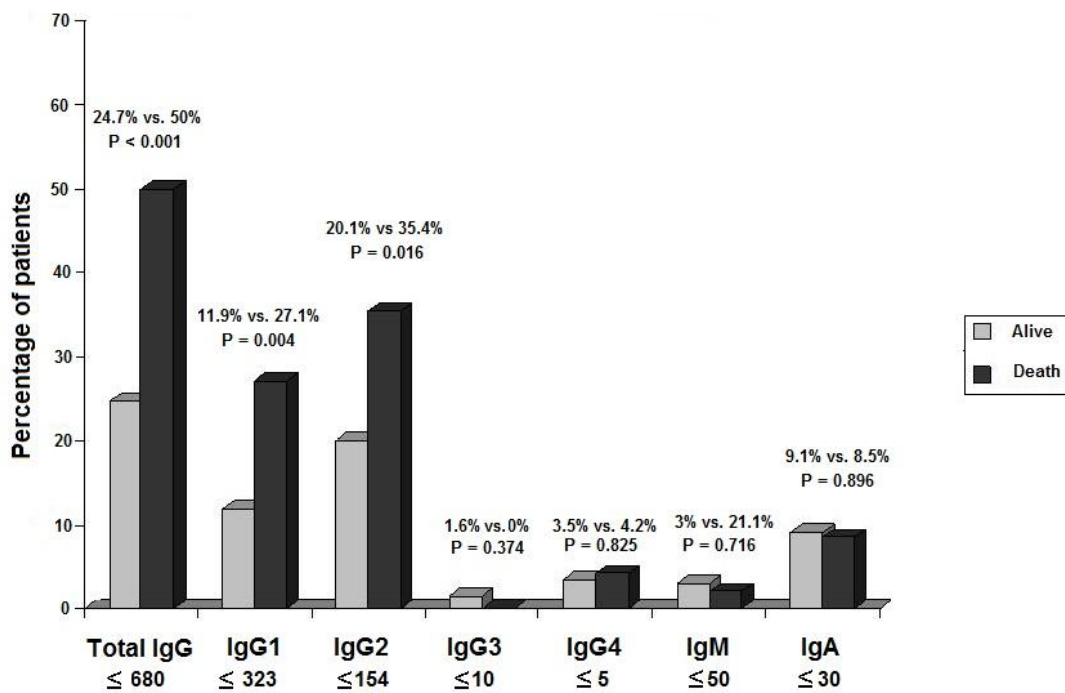


Figure 2. Low levels of serum immunoglobulins and effect on 30-day mortality.



IgG2 as an independent risk factor for mortality in patients with community-acquired pneumonia

Mari C. de la Torre,^a Elisabet Palomera,^b Mateu Serra-Prat,^b Estel Güell,^a Joan Carles Yébenes,^a Jesús F Bermejo-Martín,^c * Jordi Almirall.^{a d e *}

Affiliations:

^aUnidad Medicina Intensiva, Hospital de Mataró; ^bUnidad de Investigación, Hospital de Mataró; ^cUnidad de Investigación Médica en Infección e Inmunidad (IMI), Hospital Clínico Universitario de Valladolid SACYL/IECSCYL; ^dUniversitat Autònoma de Barcelona, ^eCiber Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Barcelona.

MC de la Torre, e-mail: mctorre@csdm.cat
E. Palomera, e-mail: epalomera@csdm.cat
M. Serra-Prat, e-mail: mserra@csdm.cat
Estel Güell, e-mail: eguell@csdm.cat
JC Yébenes, e-mail: jyebenes@csdm.cat
J.F. Bermejo-Martín, e-mail: jfbermejo@saludcastillayleon.es
J. Almirall, e-mail: jalmirall@csdm.cat
* These authors contributed equally.

Correspondence: M.Carmen de la Torre, MD, Unidad de Medicina Intensiva, Hospital de Mataró, Carretera de la Cirera s/n, E-08304 Mataró, Barcelona, Spain. Tel: +34-93-7417747. Fax: +34-93-7417770. E-mail: mctorre@csdm.cat

ABSTRACT

Background: Mortality in patients with community-acquired pneumonia (CAP) remains high despite improvements in treatment.

Objective: To determine immunoglobulin levels in patients with CAP and impact on disease severity and mortality.

Methodology: Observational, prospective study. Hospitalized patients with CAP were followed up 30-days. Levels of immunoglobulin G (IgG) and subclasses, immunoglobulin A (IgA) and immunoglobulin M (IgM) were measured in serum at time of CAP diagnosis.

Results: 362 patients with CAP — 172 ward-treated and 190 ICU-treated — were enrolled. ICU-treated patients had significantly lower values of IgG1, IgG2, IgG3 subclasses and IgA than ward-treated patients. 38 patients died before 30 days. Levels of IgG2 were significantly lower in non-survivors than survivors ($p=.004$) and a level of IgG2 <301 mg/dL was associated with poorer survival according to both the bivariate (HR 4.47; $p<.001$) and multivariate (HR 3.48; $p=.003$) analyses.

Conclusions: Patients with CAP with IgG2 levels <301 mg/dL had a poorer prognosis and a higher risk of death, suggesting that they could benefit from immunoglobulin therapy. However, this hypothesis needs to be assessed and confirmed by randomized clinical trials.

INTRODUCTION

Community-acquired pneumonia (CAP) has an annual adult incidence rate ranging from 1.6 to 13.4 cases/1000 inhabitants [1,2,3]. It requires hospitalization in approximately half of cases and intensive care unit (ICU) admission in 10%-22% of cases [3,4]. Despite improvements in treatments and in healthcare in recent years, mortality remains high, ranging from 0.1 to 0.7/1000 patients/year [3,4]. Contributing factors include advanced age, lifestyle factors, poor functional status, SAPS index >12, bilateral pulmonary involvement, etiologic agents, kidney failure, septic shock, the need for mechanical ventilation and non-adherence to guidelines [5,6]. Most of these factors are not modifiable and so are of limited interest in preventing adverse health outcomes. New research is thus required to identify modifiable prognostic factors for CAP.

In recent years, interest in immune response to CAP has been growing, with special attention being paid to the role of the immunoglobulins in severe sepsis prognosis. Several studies have demonstrated that immunoglobulin levels are low in patients with severe sepsis and septic shock [7-9] and are also associated with ICU admission and mortality risk [10,11]. It is well known that a deficit in immunoglobulins — and particularly of IgG in primary immunodeficiencies — is associated with an increased incidence of upper respiratory tract infection (sinusitis, tracheobronchitis) and lower respiratory tract infection (pneumonia), caused mostly by capsulate microorganisms. However, few studies have assessed the prognostic role played by immunoglobulins in patients with pneumonia. We designed a study to evaluate immunoglobulin levels at the time of CAP diagnosis and potential impact on disease severity and mortality.

METHODOLOGY

Study design and population

An observational and prospective study was designed in which hospitalized patients for CAP were followed up 30-days. Overall, 362 hospitalized patients with CAP (>18 years old) were recruited between January 2001 and March 2012. CAP was defined as the presence of acute lower respiratory tract infection with the appearance of focal signs on physical examination of the chest and new radiologic findings suggestive of pulmonary infiltrate [1,3]. Exclusion criteria were as follows: congenital hypogammaglobulinemia, human immunodeficiency virus infection, active malignancy or hematologic disease, administration of polyclonal intravenous immunoglobulins in the previous 3 months, patients with protein-losing enteropathy or nephrotic syndrome, cryoglobulinemia and treatment with >20 mg/day of methylprednisolone or equivalent oral corticosteroid dose. All patients gave their written consent to giving blood samples for the immunologic study on the first day of the patient-physician encounter. Written informed consent was obtained directly from all patients or their legal representative before enrolment. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Consorci Sanitari del Maresme (Barcelona, Spain).

Study factors

Main study factors were immunoglobulin levels in the acute CAP phase. A single blood sample drawn from all patients at the time of CAP diagnosis was centrifuged and the obtained plasma was stored at -80°C until required for immunoglobulin quantification (after fieldwork was completed). Plasma levels of IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA and IgM

were measured using an IMMAGE[®] 800 rate nephelometer and a multiplex immunoglobulin isotyping kit (Beckman Coulter International SA).

Main outcome measures

ICU admission and 30-day mortality were the main outcome measures. ICU admission was decided according to usual clinical practice on the basis of IDSA/ATS criteria [12]. Prognostic data also included septic shock, defined as persistent hypotension despite fluid replacement therapy associated with signs of hypoperfusion, and use of non-invasive and invasive mechanical ventilation. Severity of CAP at the first evaluation of the patient was estimated using the CURB severity score [13].

Other study variables

Recorded for each patient were demographic data (age and sex) and clinical data as follows: alcoholism (consumption of >80 g ethanol/day for at least the last 12 months); smoking (consumption of >10 cigarettes/day for at least the last 12 months); chronic respiratory disease, such as chronic bronchitis (clinically defined) or chronic obstructive pulmonary disease (diagnosed using spirometry criteria), asthma, bronchiectasis or sequelae of tuberculosis or other interstitial lung disease; chronic cardiovascular disease, ischaemic heart disease (clinical features or diagnostic studies), valvular heart disease, or other disorders such as rhythm disturbances or malformations; neurologic disease including cerebrovascular or neurodegenerative disorders; diabetes mellitus (defined as glucose intolerance or treatment with oral antidiabetic drugs or insulin); chronic renal failure (defined as chronic serum creatinine levels >2 mg/dL or blood urea nitrogen >40 mg/dL); and a history of non-active neoplasm, except for basal cell and squamous cell

carcinoma of the skin. Intake of oral corticosteroids at doses of <20 mg/day or prednisone in equivalent doses was also recorded.

Statistical analysis

Differences between groups for demographic and clinical characteristics were assessed using the χ^2 test or Fisher exact test for categorical variables and the Mann-Whitney U test or the t-test for continuous variables, as appropriate. To assess potential association between immunoglobulin levels and 30-day mortality, mean immunoglobulin levels were compared for patients who died and patients who survived using the Mann-Whitney U test and the t-test for independent data (for non-normally and normally distributed immunoglobulin levels, respectively). For immunoglobulins showing a significant association with 30-day mortality, the first decile showing significant differences in the mortality rate was considered the cut-off point. Within the identified decile, the exact cut-off point was established for immunoglobulin values (mg/dL) that optimized sensitivity and specificity in predicting mortality. This cut-off point was used in bivariate and multivariate Cox regression analyses to assess the effect of immunoglobulin levels on mortality risk. The same cut-off point was used in a logistic regression analysis to assess immunoglobulin effect on ICU admission. Kaplan-Meier analysis and the log rank test were used to assess the impact of immunoglobulin levels on mean survival. Time was censored on day 30 following CAP diagnosis. Statistical significance was set to $p < .05$. Data was analysed using SPSS for Windows version 20.0 (IBM-SPSS).

RESULTS

Study population and clinical characteristics

A total of 437 potentially eligible patients were assessed and classified into two groups: those requiring hospital admission (n=200) and those requiring ICU care (n=237). Excluded were 75 patients (17%) who met one or more exclusion criteria, leaving 362 enrolled patients: 172 ward-treated and 190 ICU-treated. Baseline characteristics of the patients are shown in Table 1.

Immunoglobulin levels and association with ICU admission

Compared to ward-treated patients with CAP, ICU-treated patients with CAP were younger, had a lower prevalence of heart, lung and neurological diseases and showed significantly lower values for the IgG1, IgG2, IgG3 subclasses and for IgA. In the multivariate analysis (Table 2), IgG2 <301 mg/dL was a risk factor for ICU care that was independent of age, sex, alcohol consumption, smoking, chronic respiratory disease, heart disease and intake of oral corticosteroids (OR=2.14; p=.002).

30-day mortality

Of the 362 patients with CAP, 38 (20%) died within 30 days of diagnosis. Comparing serum levels of immunoglobulins at the time of CAP diagnosis (Table 3) for patients who survived and patients who died, IgG2 levels were significantly lower in non-survivors (p=.004), whereas IgA levels were lower in survivors (p=.039). The IgG2 cut-off point was established at 30 mg/dL, for 83% sensitivity and 50% specificity and positive and negative predictive values (PPV and NPV) of 17.5% and 95.8%, respectively. IgG2 <301 mg/dL was associated with an increased mortality risk in both the bivariate and multivariate analyses for hazard ratios (HR) of 4.47 (p<.001) and 3.48 (p=.003), respectively. Tables 4 and 5

show bivariate and multivariate Cox regression results, respectively, for the main variables associated with 30-day mortality. It can be observed that the effect of IgG2 on mortality was independent of the existence of a previous solid neoplasm, invasive mechanical ventilation, shock and CURB score. Survival curves for patients with IgG2 below and above 301 mg/dL are contrasted in Figure 1, with the log rank test pointing to significant differences between these two groups.

DISCUSSION

To our knowledge, this is the first study providing evidence of serum levels of IgG2 at the time of CAP diagnosis as a mortality predictor for hospitalized patients with CAP. Levels of IgG2 lower than 301 mg/dL had an independent effect on survival (HR 3.48) and patients with IgG2 levels below this cut-off died sooner. This study also provides evidence that patients with severe disease requiring ICU admission had, compared to ward patients, lower serum concentrations of IgG1, IgG2 and IgG3 subclasses at the time of diagnosis, as well as lower levels of IgA. These results point to the protective role played by immunoglobulins in CAP. In the multivariate analysis, IgG2 <301 mg/dL was independently associated with ICU admission risk.

A major finding in our study was to pinpoint the contribution of IgG2 at time of admission as an independent mortality factor. According to the multivariate analysis, mortality was significantly associated with a history of solid organ neoplasm, the need for invasive mechanical ventilation, septic shock, CURB score and IgG2 <301 mg/dL. Thus, patients who had IgG2 <301 mg/dL at CAP diagnosis had a threefold higher mortality risk compared to patients with IgG2 levels above this cut-off value.

Immunoglobulins have anti-infection, immunoregulatory and anti-inflammatory properties; their mechanisms of action are neutralization of microorganisms or microbial toxins, opsonization and phagocytosis of pathogens, activation of the complement system by the classical or alternative pathway and down-regulation of the inflammatory response. Each human immunoglobulin subclass has a unique profile of effector functions playing an important role in clearance and elimination of infecting microorganism. An IgG2 deficiency is often associated with proneness to infections with selected microorganisms including *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* [14].

In our sample of patients, infection was of respiratory origin and the subclass IgG2 was associated with CAP prognosis. The relationship between pneumonia and low levels of IgG2 has been observed in previous studies. Herer et al [15] reported that serum levels of IgG2 in patients with CAP (n=38) of bacterial or unknown etiology were lower than in healthy subjects (n=26) and were still low nine months later. Feldman et al [16] found that 21% of 19 adults admitted to ICU with severe CAP were deficient in IgG1 or IgG2. Gordon et al [17,18] identified a decrease in serum levels of total IgG, IgG1 and IgG2 in CAP patients with severe H1N1-influenza CAP as well as in patients with severe non-influenza CAP. In a previous study by our group of 171 patients with pneumonia and 90 age- and sex-matched controls, we reported that all immunoglobulins were significantly lower in cases compared to controls, mostly total IgG and IgG2 values [19].

On the basis of our findings, we hypothesize that IgG2 deficiency may play a role in the prognosis of patients with CAP. Of studies that have investigated the relationship between immunoglobulins and sepsis, that by Bermejo-Martin et al [20] demonstrated that the combined presence of low levels of IgG1, IgM and IgA in plasma was associated

with reduced survival for cases of severe sepsis or septic shock. It was also observed that patients with severe disease caused by influenza A (H1N1) and low levels of IgG2 and IgM on ICU admission died sooner [21]. In our study, in contrast, we detected no differences in serum levels of IgM, perhaps because we excluded immunosuppressed patients. For patients with septic shock, Taccone et al [8] reported an association between low levels of IgG and a greater requirement for vasopressors, acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) and mortality. Venet et al [7] demonstrated the presence of low IgG concentrations in patients with septic shock, although not an association with mortality.

Intravenous immunoglobulin administration has been used as adjunctive therapy for sepsis, despite the absence of robust evidence of its efficacy [22]. Some studies have found that mortality was reduced in patients with sepsis who received preparations enriched in IgM [23,24]. Early treatment with IgM may be associated with a survival benefit for patients with septic shock [25,26].

Since IgG2 is the immunoglobulin subclass that is biologically most relevant to respiratory infection and which also influences outcome the most, treatment with immunoglobulins in selected patients with CAP could yield a clinical benefit. Not all patients with CAP would respond, however, to replacement therapies with exogenous immunoglobulin: our results suggest that only patients with IgG2 plasma levels below the reported cut-off may benefit. That said, we need to consider that only around 17% of patients with IgG2 <301 mg/dL will die.

Studies are needed to assess the efficacy and efficiency of this kind of treatment. Measuring immunoglobulin levels at the time of CAP diagnosis would help to better select

patients so as to avoid administering immunoglobulin to patients with normal levels of endogenous immunoglobulins, with the consequent risk of adverse effects (thrombosis, kidney failure, etc). This opinion, corroborated by other authors [20,21], should be considered in the design of future clinical trials evaluating immunoglobulin preparations for CAP treatment [27].

Our study has some limitations, primarily that it is a single-centre study developed over eleven years. CAP mortality rates may be affected by year of inclusion or the appearance of new protocols or strategies. Despite our strict exclusion criteria, we do not know whether some patients with low immunoglobulin levels may have had some degree of immunodeficiency which passed undetected by the researchers. Absence of follow-up during the convalescence phase meant that the potential impact on patient outcomes of immunoglobulin levels throughout disease course was not evaluated.

In conclusion, our study demonstrates that IgG2 is the immunoglobulin that most influences prognosis for patients with CAP and no previous immunodeficiency. We identified a cut-off serum IgG2 level below which there was a strong association with mortality. These results would suggest that evaluation of IgG2 concentrations in patients hospitalized with CAP could help identify individuals at a high risk of death. Although our results would suggest that replacement therapies with exogenous immunoglobulins could be an effective treatment in patients hospitalized for CAP, further evidence is needed from large, well-designed randomized controlled trials to confirm this hypothesis.

REFERENCES

1. Woodhead MA, Macfarlane JT, McCracken JS, et al. Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet* 1987; 1: 671–674.
2. Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H, et al. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 1993; 137: 977–988.
3. Almirall J, Bolibar I, Vidal J, et al. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *Eur Respir J* 2000; 15: 757–763.
4. Sligl WI, Marrie TJ. Severe community-acquired Pneumonia. *Crit Care Clin* 2013; 29: 563-601.
5. Almirall J, Mesalles E, Klamburg J, et al. Prognostic factors of pneumonia requiring admission to the Intensive Care Unit. *Chest* 1995; 107: 511-6.
6. Torres A, Peetermans WE, Viegi G, et al. Risk factors for community-acquired pneumonia in adults in Europe: a literature review. *Thorax* 2013; 68:1057-1065.
7. Venet F, Gebeile R, Bancel J, et al. Assessment of plasmatic immunoglobulin G, A and M levels in septic shock patients. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 2086-90.
8. Taccone FS, Stordeur P, De Backer D, et al. Gamma-globulin levels in patients with community-acquired septic shock. *Shock* 2009; 32: 379-85.
9. Tamayo E, Fernández A, Amansa R, et al. Beneficial role of endogenous immunoglobulin subclasses and isotypes in septic shock. *J Crit Care* 2012; 27: 616-22.
10. Bermejo-Martin JF, Rodriguez-Fernandez A, Herrán-Monge R et al; GRECIA Group (Grupo de Estudios y Análisis en Cuidados Intensivos). Immunoglobulins IgG1, IgM and

- IgA : a synergistic team influencing survival in sepsis. *J Intern Med.* 2014 ; 276 (4): 404-12.
11. Andaluz-Ojeda D, Iglesias V, Bobillo F et al. Early natural killer cell counts in blood predict mortality in severe sepsis. *Crit Care* 2011 ; 15 : R243.
 12. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clinical Infectious Diseases* 2007; 44: S27–72.
 13. British Thoracic Society. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. *Thorax* 2001 ; 56: 1-64.
 14. Malbrain ML, De Laet I. Should I give my septic patients polyclonal gamma-globulins if they are hypogammaglobulinemic? *Shock* 2010; 33: 337-338.
 15. Herer B, Labrousse F, Mordelet-Dambrine M, et al. Selective IgG subclass deficiencies and antibody responses to pneumococcal capsular polysaccharide antigen in adult community-acquired pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1990 ; 142:854-857.
 16. Feldman C, Mahomed AG, Mahida P Morar R, et al. IgG subclasses in previously healthy adult patients with acute community-acquired pneumonia. *S Afr Med J* 1996 ;86 :600-602.
 17. Gordon CL, Johnson PD, Permezel M, et al. Association between severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection and immunoglobulin G(2) eratiz deficiency. *Clin Infect Dis* 2010; 50:672-678.

18. Gordon CL, Holmes NE, Grayson ML, et al. Comparison of immunoglobulin G subclass concentrations in severe community-acquired pneumonia and severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) infection. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19:446-448.
19. de la Torre MC, Bolívar I, Vendrell M, et al. Serum immunoglobulins in the infected and convalescent phases in community-acquired pneumonia. *Respir Med* 2013 ;107 :2038-2045.
20. Bermejo-Martín JF, Rodríguez-Fernández A, Herrán-Monge R, et al. Immunoglobulins IgG1, IgM and IgA: a synergistic team influencing survival in sepsis. *J Intern Med* 2014; 276:404-12.
21. Justel M, Socias L, Almansa R, et al. IgM levels in plasma predict outcome in severe pandemic influenza. *J Clin Virol* 2013; 58:564-7.
22. Alejandria MM, Lansang MAD, Dans LF, et al. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis, severe sepsis and septic shock. *Cochrane Database of systematic Reviews* 2002. Issue 1. Art. No.: CD001090. DOI: 10.1002/14651858. CD001090.
23. Kreymann KG, de Heer G, Nierhaus A, et al. Use of polyclonal immunoglobulins as adjunctive therapy for sepsis or septic shock. *Crit Care Med* 2007; 35:2677-2685.
24. Norrby-Teglund A, Haque KN, Hammarström L. Intravenous polyclonal IgM-enriched immunoglobulin therapy in sepsis: a review of clinical efficacy in relation to microbiological aetiology and severity of sepsis. *J Intern Med* 2006; 260: 509-516.
25. Cavazzuti I, Serafini G, Busani S, et al. Early therapy with IgM-enriched polyclonal immunoglobulin in patients with septic shock. *Intensive Care Med*. 2014; 40:1888-96.
26. Berlot G, Vassllo MC, Busetto N, et al. Relationship between the timing of administration of IgM and IgA enriched immunoglobulins in patients with severe

sepsis and septic shock and the outcome: a retrospective analysis. *J Crit Care* 2012; 27: 167-171.

27. Welte T, Dellinger RP, Ebel H, et al. Concept for a study design in patients with severe community-acquired pneumonia: A randomized controlled trial with a novel IGM-enriched immunoglobulin preparation – the CIGMA study. *Respir Med* 2015; S0954-6111 (15)00107-9. doi 10.1016/j.rmed.2015.03.008.

TABLES AND FIGURES

Table 1. Patient baseline characteristics according to site of care (ward or ICU).

Variables	Ward patients (n=172)	ICU patients (n=190)	P
Male patients	111 (64.5)	135 (71.1)	.184
Age in years, mean (SD)	71.1 (15.7)	60.1 (17.5)	<.001
Alcohol consumption	8 (4.8)	29 (15.3)	.001
Smoking	27 (16.1)	67 (35.3)	<.001
Chronic respiratory disease	99 (58.6)	73 (38.4)	<.001
Chronic heart disease	76 (45.0)	41 (21.6)	<.001
Diabetes mellitus	41 (24.3)	44 (23.2)	.806
Chronic neurologic disorders	29 (17.2)	19 (10.0)	.047
Chronic renal failure	8 (4.7)	7 (3.7)	.620
Previous solid neoplasm	10 (5.9)	4 (2.1)	.063
Oral corticosteroids	30 (17.8)	8 (4.2)	<.001
Previous symptoms in days, mean (SD)	4.5 (5.3)	3.5 (3.0)	.819
Non-invasive ventilation	0	39 (20.5)	<.001
Invasive ventilation	0	104 (54.7)	<.001
Shock	0	87 (45.8)	<.001
Death	3 (1.7)	38 (20.0)	<.001
Immunoglobulins in mg/dL, mean (SD)			
IgG total	1022.37 (343.2)	1049.02 (647.6)	.239
IgG1	658.46 (264.7)	639.55 (368.6)	.016
IgG2	344.86 (188.0)	289.82 (164.2)	.001
IgG3	67.11 (33.76)	58.24 (40.5)	.001
IgG4	61.87 (64.7)	53.76 (62.9)	.067
IgM	273.63 (132.5)	237.73 (137.6)	.667
IgA	107.23 (139.5)	97.46 (80.1)	.012

Data as frequencies (and percentages in parenthesis) unless otherwise indicated.

Table 2. Adjusted effect of IgG2 on ICU admission (multivariate logistic regression analysis).

	OR (CI 95%)	P
Sex, male	1.65 [0.98-2.78]	.061
Age	0.98 [0.96-0.99]	.007
Alcohol consumption	2.60 [1.03-6.60]	.044
Smoking	1.22 [0.63-2.34]	.558
Chronic respiratory disease	0.60 [0.37-0.99]	.048
Chronic heart disease	0.51 [0.30-0.87]	.013
Oral corticosteroids	0.37 [0.15-0.90]	.029
IgG2 <301 mg/dL	2.14 [1.33-3.43]	.002

OR: odds ratio. CI: confidence interval.

Table 3. Serum immunoglobulin levels for survivors and non-survivors.

Serum immunoglobulins in mg/dL, mean (SD)	Survivors (n=321)	Non-survivors (n=38)	P
IgG total	1028.35 (513.5)	1098.71 (610.4)	.900
IgG1	635.20 (299.4)	752.39 (461.8)	.377
IgG2	322.01 (175.1)	268.90 (193.2)	.004
IgG3	64.18 (35.8)	62.60 (12.4)	.480
IgG4	59.79 (63.9)	53.72 (67.5)	.312
IgM	102.32 (117.5)	100.20 (54.2)	.159
IgA	249.40 (131.4)	296.07 (165.3)	.039

Table 4. Bivariate Cox regression analysis at 30 days survival following diagnosis.

	HR (CI 95%)	P
Male sex	0.585 [0.28-1.22]	.155
Age	1.005 [0.99-1.02]	.593
Previous antibiotic	1.152 [0.45-2.94]	.767
Alcohol consumption	1.545 [0.65-3.67]	.325
Smoking	0.782 [0.37-1.64]	.514
Chronic respiratory disease	0.841 [0.45-1.56]	.581
Chronic heart disease	0.743 [0.37-1.48]	.400
Diabetes mellitus	1.350 [0.69-2.64]	.382
Chronic neurologic disorders	1.659 [0.77-3.59]	.199
Chronic renal failure	1.19[0.29-4.96]	.803
Previous solid neoplasm	3.139 [1.12-8.81]	.030
Oral corticosteroids	1.19 [0.47-3.04]	.713
Non-invasive ventilation	1.759 [0.78-3.97]	.174
Invasive ventilation	14.010[6.21-31.62]	<.001
Septic shock	11.756 [5.76-24.00]	<.001
CURB	2.437 [1.85-3.20]	<.001
IgG2 <301 mg/dL	4.470 [1.98-10.08]	<.001

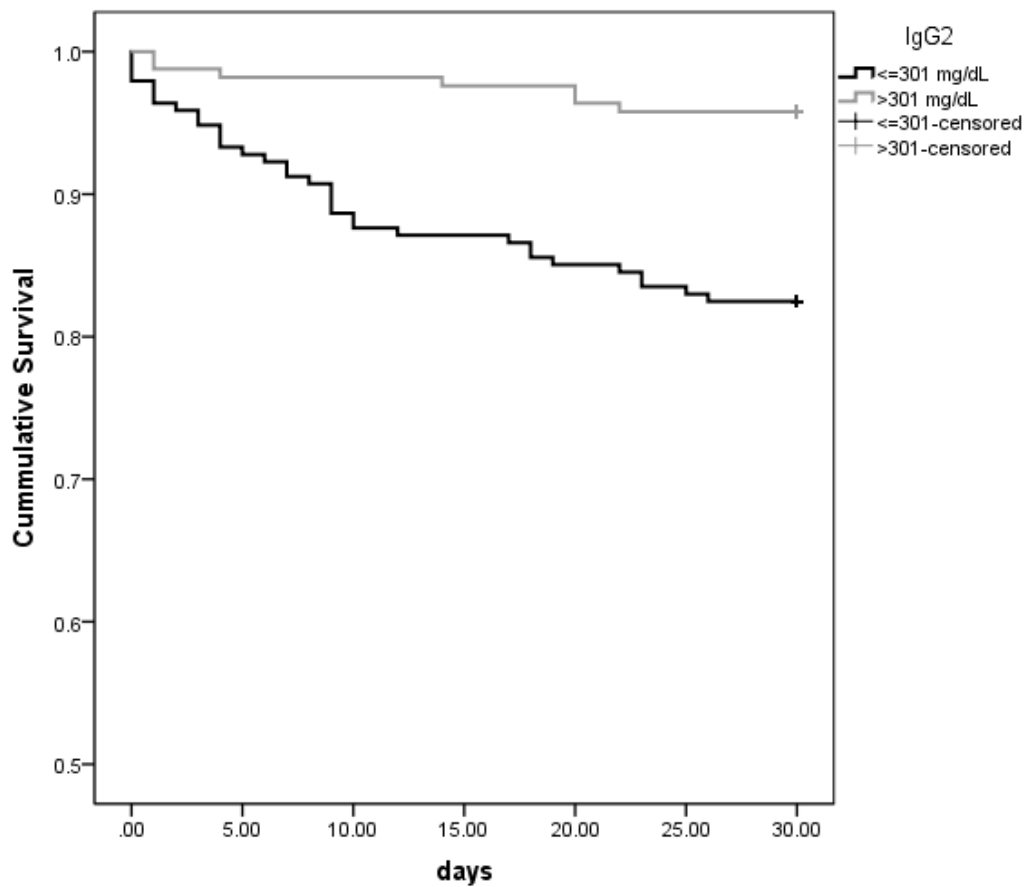
HR: hazard ratio. CI: confidence interval.

Table 5. Multivariate Cox regression analysis at 30 days survival following diagnosis (time censored at day 30).

	HR (CI 95%)	P
Previous solid neoplasm	6.08 [1.97 - 18.72]	.002
Invasive ventilation	5.09 [1.97 - 13.15]	.001
Septic shock	3.14 [1.14 – 6.66]	.024
CURB	1.49 [1.08 - 2.11]	.022
IgG2 <301 mg/dL	3.48 [1.53 – 7.89]	.003

HR: hazard ratio. CI: confidence interval.

Figure 1. Kaplan-Meier survival curves. The first decile showing significant differences between groups based on the log rank test (Mantel-Haenzel) was used as the cutoff point (IgG2 <301 mg/dL). Outcome was time until death. Time was censored at day 30. Cum Surv indicates cumulative survival.



BIBLIOGRAFIA

1. Restrepo MI, Jorgensen JH, Mortensen EM, Anzueto A. Severe community-acquired pneumonia: current outcomes, epidemiology, etiology and therapy. *Curr Opin Infect Dis* 2001; 14:703-709.
2. Bauer TT, Welte T, Ernen C, Schlosser BM, Thate-Waschke I, de Zeeuw J, Schultze-Werninghaus G. Cost analyses of community-acquired pneumonia from the hospital perspective. *Chest* 2005; 128:2238-2246.
3. Almirall J, Bolívar I, Vidal J, Sauca G, Coll P, Niklasson B, Bartolomé M, Balanzó X. Epidemiology of community-acquired pneumonia in adults: a population-based study. *Eur Respir J* 2000;15:757-763.
4. Woodhead MA, Macfarlane JT, McCracken JS, Rose DH, Finch RG. Prospective study of the aetiology and outcome of pneumonia in the community. *Lancet* 1987;2:671-674.
5. Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H, Kallinen S, Karkola K, Korppi M, Kurki S, Rönningberg PR, Seppä A, Soimakallio S. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland. *Am J Epidemiol* 1993;137:977-988.
6. Sligl WI, Marrie TJ. Severe community-acquired pneumonia. *Crit Care Clin* 2013;29:563-601.
7. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 cause of death for 20 age groups in 1990 and 2010 : a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012 ;380 :2095-2128.
8. Dodek PM, Norena M, Keenan SP, et al. Intensive care unit admissions for community-acquired pneumonia are seasonal but are not associated with weather or reports of influenza-like illness in the community. *J Crit Care* 2011;26:228-33.
9. Almirall J, Rofes L, Serra-Prat M, Icart R, Palomera E, Arreola V, Clavé P. Oropharyngeal dysphagia is a risk factor for community-acquired pneumonia in the elderly. *Eur Respir J*. 2013; 41:923-8.
10. Sligl WI, Eurich DT, Marrie TJ, et al. Age still matters: prognosticating short-and long-term mortality for critically ill patients with pneumonia. *Crit Care Med* 2010; 38:2126-32.

11. American Thoracic Society. Guidelines for the initial management of adults with community-acquired pneumonia : diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy. *Am Rev Respir Dis.* 1993 ; 148 :1418-1426.
12. American Thoracic Society. Guidelines for the initial management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 ;163 :1730-54.
13. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/ American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis.* 2007 ;44(S2) :S27-72.
14. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005 ; 171 :388-416.
15. British Thoracic Society. BTS guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults. *Thorax* 2001 ; 56: 1-64.
16. Lim WS, van der Eerden MM, Laing R, et al . Defining community-acquired pneumonia severity on presentation to hospital : an international derivation and validation study. *Thorax* 2003;58 :377-82.
17. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997 ;336 :243-50.
18. España PP, Capelastegui A, Gorordo I, et al. Development and validation of a clinical prediction rule for severe community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006 ;174 :1249-1256.
19. Charles PG, Wolfe R, Whitby M, et al. SMART-COP : a tool for predicting the need for intensive respiratory or vasopressor support in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2008 ;47 :375-384.
20. Rello J, Rodríguez A, Lisboa T, et al. Assessment of severity in ICU patients with community-acquired pneumonia using PIRO score. *Crit Care Med* 2009;37 :456-62.
21. Wunderink RG, Waterer GW. Community-acquired pneumonia : pathophysiology and host factors with focus on possible new approaches to management of lower respiratory tract infections. *Infect Dis Clin North Am* 2004 ; 18 :743-59.

22. Mason DM, Nelson S. Pulmonary host defenses and factors predisposing to lung infection. *Clin Chest Med* 2005 ;26 :11-7.
23. Almirall J, Bolibar I, Balanzo X, et al. Risk factors for community-acquired pneumonia in adults : a population-based case control study. *Eur Respir J* 1999 ;13 :349-55.
24. Laheij RJ, Surkenboom MC, Hassing RJ, et al. Risk of community-acquired pneumonia and use of gastric acid-suppressive drugs. *JAMA* 2004 ;292 :1955-60.
25. Trifiro G, Gambassi G, Sen EF, et al. Association of community-acquired pneumonia with antipsychotic drug use in elderly patients : a nested case-control study. *Ann Intern Med* 2010 ; 152 :418-25, W 139-440.
26. Almirall J, Bolibar I, Serra-Prat M, et al. Inhaled drugs as risk factors for community-acquired pneumonia. *Eur Respir J* 2010 ;36 :1080-7.
27. Hermos JA, Young MM, Fonda JR, et al. Risk of community-acquired pneumonia in veteran patients to whom proton inhibitors were dispensed. *Clin Infect Dis* 2012 ;54 :33-42.
28. Appelbaum PC, Bhamjee A, Scragg JN, et al. *Streptococcus pneumoniae* resistant to penicillin and chloramphenicol. *Lancet* 1977;2 :998-7.
29. Vanderkooi OG, Low DE, Green K, et al. Predicting antimicrobial resistance in invasive pneumococcal infections. *Clin Infect Dis* 2005 ;40 :1288-97.
30. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as an etiology of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis*. 2012 ;54 :1126-33.
31. Vardakas KZ, Matthaiou DK, Falagas ME. Incidence, characteristics and outcomes of patients with severe community acquired-MRSA pneumonia. *Eur Respir J*. 2009 ;34 :1148-58.
32. National Nosocomial Infections Surveillance System. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am J Infect Control* 2004 ;32 :470-85.
33. Li M, Diep BA, Villaruz AE, et al. Evolution of virulence in epidemic community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009 ;106 :5883-8.

34. Hidron AI, Low CE, Honig EG, et al. Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300 as a cause of necrotising community-onset pneumonia. *Lancet Infect Dis* 2009 ;9 :384-92.
35. Castaldo ET, Yang EY. Severe sepsis attributable to community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : an emerging fatal problem. *Am Surg* 2007 ;73 :684-7.
36. Kumar A, Zarychanski R, Pinto R, et al. Critically ill patients with 2009 influenza A (H1N1) infection in Canada. *JAMA* 2009 ;302 :1872-9.
37. Marrie TJ, Shariatzadeh MR. Community-acquired pneumonia requiring admission to an intensive care unit : a descriptive study. *Medicine (Baltimore)* 2007 ;86 :103-11.
38. Metlay JP, Kapoor wN, Fine MJ. Does this patient have community-acquired pneumonia ? Diagnosing pneumonia by history and physical examination. *JAMA* 1997 ;278 :1440-5.
39. Vandershueren S, Deeren D, Knockaert DC, et al. Extremely elevated C-reactive protein. *Eur J Intern Med* 2006 ;17 :430-3.
40. Flanders SA, Stein J, Shochat G, et al. Performance of a bedside C-reactive protein test in the diagnosis of community-acquired pneumonia in adults with acute cough. *Am J Med* ;116 :529-35.
41. Almirall J, Bolibar I, Toran P, et al. Contribution of C-reactive protein to the diagnosis and assesment of severity of community-acquired pneumonia. *Chest* 2004 ;125 :1335-42.
42. Kruger S, Ewing S, Papassotiriou J, et al. Inflammatory parmeters predict etiologic patterns but do not allow for individual prediction of etiology in patients with CAP : results from the German competence network CAPNETZ. *Respir Res* 2009;10 :65.
43. Simon L, Gauvin F, Amre DK, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection : a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2004 ;39 :206-17.
44. Boussekey N, Leroy O, Alfandari S, et al. Procalcitonin kinetics in the prognosis of severe community-acquired pneumonia. *Intensive Care Med* 2006 ;32 :469-72.

45. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in low respiratory tract infections : cluster-randomised, single-blinded intervention trial. *Lancet* 2004 ;363 :600-7.
46. Masia M, Gutierrez F, Shum C, et al. Usefulness of procalcitonin levels in community-acquired pneumonia according to the patients outcome research team pneumonia severity index. *Chest* 2005 ;128 :223-9.
47. Muller F, Christ-Crain M, Bregenzer T, et al. Procalcitonin levels predict bacteriemia in patients with community-acquired pneumonia : a prospective cohort trial. *Chest* 2010 ;138 :121-9.
48. Pugh R, Grant C, Cooke RP, et al. Short-course versus prolonged-course antibiotic therapy for hospital-acquired pneumonia in critically ill adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2011 ;(10) :CD007577.
49. Berg P, Lindhardt B. The role of procalcitonin in adult patients with community-acquired pneumonia- a systematic review. *Dan Med J* 2002; 59: A4357.
50. van Tuijn CF, Luitse JS, van der Valk M, van Wissen S, Prins M, Rosmulder R, et al. Reduction of the door-to-needle time for administration of antibiotics in patients with a severe infection : a tailored intervention project. *Neth J Med.* 2010 ;68 :123-7.
51. Rodriguez A, Diaz E, Martin-Loeches I, et al. Impact of early oseltamivir treatment on outcome in critically ill patients with 2009 pandemic influenza A. *J Antimicrob Chemother* 2011 ;66 :1140-9.
52. Giamarellos-Bourboulis EJ. Immunomodulatory therapies for sepsis : unexpected effects with macrolides. *Int J Antimicrob Agents* 2008 ;32 (Suppl 1) : S39-43.
53. Kumar A, Ellis P, Arabi Y, et al. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest* 2009 ;136 :1237-48.
54. Avdic E, Cushinotto LA, Hughes AH, et al. Impact of an antimicrobial stewardship intervention on shortening the duration of therapy for community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2012;54 :1581-7.

55. Libro blanco del GTEI 2012. Actualización en neumonía comunitaria grave en la UCI. Coordinadores : Alejandro Rodríguez Oviedo, María Jesús López Pueyo, Diego López Mendoza. Editorial EdikaMed.SL.
56. Meijvis SC, van de Garde EM, Rijkers GT, Boss WJ. Treatment with anti-inflammatory drugs in community-acquired pneumonia. *J Intern Med* 2012; 272:25-35.
57. Janeway CA, Jr., Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol.* 2002;20:197-216.
58. Abul K Abbas, Andrew Lichtman, Shiv Pillai. *Cellular and Molecular Immunology*. 7th Edition. Elsevier. 2012.
59. Buer, J and Balling R. Mice, microbes and Models of infection. *Nature Reviews Genetics* 2003 ;4 :195-205.
60. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, Schein RMH, Sibbald WJ. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest* 1992; 101:1644-1655.
61. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; International Sepsis Definitions Conference. 2001 SCCM/ESICM/ ACCP/ ATS/ SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med* 2003; 29:530-538.
62. *Biological Science*, 2/edition. Pearson Prentice Hall, Inc. 2005.
63. Silverstein AM. A history of theories of antibody formation. *Cell immunol.* 1985; 91 :263-83.
64. Silverstein AM. Cellular versus humoral immunity : determinants and consequences of an epic 19th century battle. *Cell Immunol.* 1979 ;48 :208-21.
65. Ehrlich P. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. II Ueber Abrin. *Dtsch Med Wochenschr.* 1891; 17 :1218.
66. Ehrlich P. Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. *Klinisches Jahrbuch.* 1897; 6 :299-326.
67. Ehrlich P. On immunity with special reference to cell life. *Proc Roy Soc (London).* 1900; 66 :424-48.

68. Landsteiner K. The Specificity of Serologica Reactions, 1936. Baltimore : 1936.
69. Landsteiner K. Ueber die Antigeneigenschaften von methyliertem Eiweiss. VII. Mitteilung über Antigene. Zeitschrift für Immunitätsforschung. 1917; 26: 122-33.
70. Heidelberger M, Avery OT. The soluble specific substance of pneumococcus. J Exp Med. 1923; 38: 73-9.
71. Heidelberger M. Reminiscences. Immunol Rev. 1985; 83: 5-22.
72. Marrack JR. The chemistry of antigens and antibodies. Special Reports series No194. London : Medical Research Council. 1934.
73. Tiselius A, Kabat EA. An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. J Exp Med. 1939 ;69 :119-31.
74. Kunkel HG, Salter RJ, Good RA. Relation between certain myeloma proteins and normal gamma globulin. Proc soc Exp Biol Med. 1951 ; 76: 190-3.
75. Oudin J. 'L'alotypie' de certains antigènes protéidiques du sérum. Cr. Hebd Séance Acad Sci (Paris) 1956 ; 2606-2608.
76. Korngold L, Lipari R. Multiple-myeloma proteins. III antigenic relationship of Bence-Jones proteins to normal gamma-globulin and multiple-myeloma serum proteins. Cancer 1956; 9: 262-272.
77. Edelman GM. Dissociation of gamma-globin. J. Am Chem Soc 1959; 81: 3155-3156.
78. Fahey JL, Solomon A. Two types of gamma myeloma proteins, B2a myeloma proteins, gamma-1-globulins-macroglobulins and Bence Jones proteins identified by two groups of common antigenic determinants. J Clin Invest 1963; 42: 811-822.
79. Mannik M, Kundel HG. Classification of myeloma proteins, Bence Jones proteins, and macroglobulins into two groups on the basis of common antigenic determinants. J Exp Med 1962; 116: 859-877.
80. Migita S, Putman FW. Antigenic relationships of Bence Jones proteins, myeloma proteins and normal human gamma-globin. J Exp Med 1963; 117: 81-104.
81. Korngold L. Abnormal plasma components and their significance in disease. Ann N Y Acad Sci 1961 ; 94 :110-130.
82. Tomasi TB, Tan EM, Solomon A, Prendergast RA. Characteristics of an immune system common to certain external secretions. J Exp Med. 1965 ;121 :101-24

83. Rowe DS, Fahey JL. A new class of human immunoglobulins. II. Normal serum IgD. *J Exp Med.* 1965; 121 :171-84.
84. Ishizaka K, Ishizaka T, Hornbrook MM. Physicochemical properties of reaginic antibody. Correlation of reaginic activity with gamma-E-globulin antibody. *J Immunol.* 1966; 97: 840-53.
85. Raju TN. The Nobel Chronicles. 1984 : Niels Kai Jerne, (1911-94) César Milstein (b1926) and Georges Jean Franz Khöhler (1946-95). *The Lancet* 2000 ; 355 (9197): 75.
86. Hozumi N, Tongawas S. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 1976 ; 73 (10): 3628-32.
87. Ramos-Bello D, Llorente L. Cincuentenario del descubrimiento de la estructura química de los anticuerpos. *Reumatol Clin.* 2009; 5(6) :280-284.
88. Schroeder H. And Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *Journals of allergy and clinical immunology.* 2010; 125(2) : 41-52.
89. Woof JM, Mestecky J. Mucosal immunoglobulins. *Immunol Rev.* 2005 ;206 :64-82.
90. Stubbe H, Berdoz J, Kraehenbuhl JP, Corthesy B. Polymeric IgA is superior to monomeric IgA and IgG carrying the same domain in preventing *Clostridium difficile* toxin A damaging of T84 monolayers. *J. Immunol.* 2000 ; 164 :1952-1960.
91. Corthesy B. Roundtrip ticket for secretory IgA : role in mucosal homeostasis ? *J.Immunol.* 2007; 178: 27-32.
92. McMillan SA, Douglas JP, Archbold GPR, McCrum EE, Evans AE. Effect of low to moderate levels of smoking and alcohol consumption on serum immunoglobulin concentrations. *J Clin Pathol* 1997 ; 50 :816-822.
93. Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, Campos J, Rey J, Meijide LM, Fernandez-Merino C, Vidal C. Serum levels of immunoglobulines (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clin Exp Immunol.* 2008;151(1):42-50.
94. Weber-Mzell D, Kotanko P, Hauer AC, Goriup U, Hass J ; Lanner N, Erwa W, Ahmaida IA, Hatichi-Petnehazy S, Stenzel M, Lanzer G, Deutsch J. Gender, age and seasonal

- effects on IgA deficiency : a study of 7293 caucasians. *Eur J Clin Invest* 2004 ;34 (3) :224-228.
95. Yeh SW, Cavacini LA, Bhol KC, Lin MS, Kumar M, Duval M, Posner MR, Ahmed AR. Pathogenic human monoclonal antibody against desmoglein 3. *J. Immunol.* 2006 ; 120 :68-75.
96. Cavanici LA, Kuhrt D, Duval M, Mayer K, Postner M. Binding and neutralization activity of IgG1 and IgG3 from serum of HIV infected individuals. *AIDS Research & Human Retroviruses.* 2003 ; 19 :785-792.
97. Scharf O, Golding H, King LR, Eller N, Frazier D, Golding B, Scott DE. Immunoglobulin G3 from polyclonal human immunodeficiency virus (HIV) immune globulin is more potent than other subclasses in neutralizing HIV type I. *J Virol* 2001 ; 75 :6558-6565.
98. Hammarstrom L, Smith CI. IgG deficiency in a healthy donor. Concomitant lack of IgG2, IgA and IgE immunoglobulins and specific anticarbohydrate antibodies. *Clin Exp Immunol* 1983 ;51 :600-604.
99. Develioglu ON¹, Kucur M, Ipek HD, Celebi S, Can G, Kulekci M. Effects of Ramadan fasting on serum immunoglobulin G and M, and salivary immunoglobulin A concentrations. *J Int Med Res.* 2013; 41(2):463-72.
100. Giessen M van der, Rousow E, Algra-Van Veen T, Loghem E van, Zegers BJM, Sandr PC. Quantitation of IgG subclasses in sera of normal adults and healthy children between 4 and 12 years of age. *Clin Exp Immunol* 1975 ; 21 :501-509.
101. Aucouturier P, Mounir S, Preud'home J-L. Distribution of IgG subclass levels in normal adult sera as determined by a competitive immunoassay using monoclonal antibodies. *Diagnostic Immunol* 1985 :191-196.
102. Merrett T, Burr ML, Merrett TG. A community survey of IgG4 antibody levels. *Clin Allergy* 1983 ;13 :397-407.
103. Birdsall HH. Antibodies. <http://www.harcourt-international.com/e-books/pdf/992.pdf>2004.
104. Maddison SE, Relmen CB. Normative values of serum immunoglobulines by single radial immunodiffusion : a review. *Clin Chem* 1976 ;22 :294-601.

105. Stoica G, Macaire E, Michiu V, Stoica RC. Biologic variation of human immunoglobulin concentration. I. Sex-age specific effects on serum levels of IgG, IgA, IgM and IgD. *Med Interne* 1980 ; 18 :323-32.
106. Giltay EJ, Fonk JC, von Blomberg BM, Drexhage HA, Cchalkwijk C, Gooren LJ. In vivo effects of sex steroids on lymphocyte responsiveness and immunoglobulin levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000 ;85 :1648-57.
107. Riesbeck K, Nordstrom T. Structure and immunological action of the human pathogen *Moraxella catarrhalis* IgD-binding protein. *Critical Reviews in Immunology*. 2006 ; 26 :235-376.
108. Charles Janeway, Paul Travers, Mark Walport, Mark Shlomchik. *Immunobiology. The Immune System in Health and Disease*. 6^o edició. Garland Science 2005.
109. Furst D.E. Serum immunoglobulins and risk of infection : how low can you go? *Semin Arthritis Rheum* 2008 ; 39 :18-29.
110. Buckley RH. Pulmonary complications of primary immunodeficiencies. *Paediatr Resp Rev* 2004 ; 5 (Suppl A) : S225-33.
111. Cooper MA, Pommering TL, Koranyi K. Primary immunodeficiencies. *Am Fam Physician* 2003 ;68 :2001-8
112. Bascom R, Dolina MY, Himan BC. Immunoglobulin A deficiency. <http://emedicine.com/med/topic1159htm>. 2006.
113. Balow M. Primary immunodeficiency disorders : antibody deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2002 ;109 :581-91.
114. Chin T. Agammaglobulinemia. <http://emedicine.com/ped/topic54.htm> 2006.
115. Milá Llambí J, Etxagibel Galdos A, Matamoros Florí N. Registro Español de Inmunodeficiencias Primarias (REDIP). *Allergol et Immunopathol* 2001 ;29 (3): 122-125.
116. Boyle JM, Buckley RH. Population prevalence of diagnosed primary immunodeficiency diseases in the United States. *J Clin Immunol* 2007 ; 27 :497-502.
117. Lee AH, Levinson AI, Shumacher HR Jr. Hypogammaglobulinemia and rheumatic disease. *Semin Arthritis Rheum* 1993 ;22 :252-64.
118. Morell A. Clinical relevance of IgG subclass deficiencies. *Ann Biol Clin (Paris)* 1994 ; 52 :49-52.

119. De Gracia J, Rodrigo MJ, Morell F et al. IgG subclasses deficiencies associated with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996 ;153 :650-655.
120. Hill SL, Mitchell JL, Burnett D et al. IgG subclasses in the serum and sputum from patients with bronchiectasis. *Thorax* 1998 ;53 :463-468.
121. Hussain I. Immunoglobulin M deficiency. <http://www.emedicine.com/med/topic3436.htm> 2006.
122. Sorensen RU, Moore C. Antibody deficiency syndromes. *Pediatr Clin North Am* 2000 ; 47 :1225-52.
123. Gilardin L, Bayry J, Kaveri SV. Intravenous immunoglobulin as clinical immunomodulating therapy. *CMAJ* 2015 ; 187 (4) : 257-64.
124. Kerr J, Quinti I, Eibl M, Chapel H, Späth PJ, Sewell WA, Salama A, van Schaik IN, Kuijpers TW, Peter HH. Is dosing of therapeutic immunoglobulins optimal? A review of a three-decade long debate in Europe. *Front Immunol* 2014; 5 :629.
125. Ratko T, Burnett D, Foulke G et al. Recommendations for off-label use of intravenously administered immunoglobulin preparations. *JAMA* 1995 ; 273 :1865-70.
126. Ahmed AR, Dahl MV. Consensus statement on the use of intravenous immunoglobulin therapy in the treatment of autoimmune mucocutaneous blistering diseases. *Arch Dermatol* 2003 ;139 :1051-9.
127. Orange JS, Hossny EM, Weiler CR et al. Use of intravenous immunoglobulin in human disease: a review of evidence by members of the Primary Immunodeficiency Committee of the American Academy of Allergy, Asthma, and Immunology. *J Allergy Clin Immunol*.2006 ;117(suppl4) :S525-53.
128. Aetna Clinical Policy Bulletin. Intravenous immunoglobulins (IGIV). www.aetna.com/cpb/dat/CPBA0206.html.
129. Blue Cross of California Clinical UM Guideline. Intravenous immunoglobulins (IGIV). <http://medpolicy.bluecrossca.com/policies/guidelines/DRUG/ivig.html>.
130. Intravenous immunoglobulin (IVIg). *Med Lett Drugs Ther.* 2006 ;48 :101-3.
131. Sewell WA, Kerr J, Behr-Gross ME, Peter H-H ; Kreuth Ig Working Group. European consensus proposal for immunoglobulin therapies. *Eur J Immunol* 2014 ; 44 (8) :2207-14.

132. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G, Sccm/Escim/Accp/Ats/Sis (2003) 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference. Crit Care Med 2004 ; 31 :1250-1256.
133. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. N Engl J Med 2013 ; 369 :840-851.
134. Hutchins NA, Unsinger J, Hotchkiss RS, Ayala A. The new normal : immunomodulatory agent against sepsis immune suppression. Trends Mol Med 2014 ; 20 :224-233.
135. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R et al. Surviving sepsis campaign : international guidelines for management of severe sepsis and septic shock :2008. Intensive Care Med 2008 ; 34 :17-60.
136. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM et al. Surviving campaign guidelines committee including the pediatric subgroup : surviving sepsis campaign : international guidelines for management of severe sepsis and septic shock :2012. Intensive Care Med 2013 ;39 :165-228.
137. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. N Engl J Med. 2013 ;369 :840-51.
138. Barochia AV, Cui X, Vitberg D, Suffredini AF, O'Grady NP, Banks SM et al. Bundled care for septic shock : an analysis of clinical trials. Crit Care Med 2010 ; 38 :668-678.
139. Soares MO, Welton NJ, Harrison DA, Peura P, Shankar-Hari M, Harvey SE, Madan JJ, Ades AE, Palmer SJ, Rowan KM. An evaluation of the feasibility, cost and value of information of a multicentre randomised controlled trial of intravenous immunoglobulin for sepsis (severe sepsis and septic shock) : incorporating a systematic review, meta-analysis and value information analysis. Health Technol Assess 2012 ; 16 :1-186.
140. Soares MO, Welton NJ, Harrison DA, Peura P, Shankar-Hari M, Harvey SE, Madan JJ, Ades AE, Palmer SJ, Rowan KM. Intravenous immunoglobulin for severe sepsis and septic shock : clinical effectiveness, cost effectiveness and value of a further randomised controlled trial. Critical Care 2014 ; 18 :649.

141. Shankar-Hari M, Spencer J, Sewell WA, Rowan KM, Singer M. Bench-to-bedside review : immunoglobulin therapy for sepsis—biological plausibility from a critical care perspective. *Crit Care* 2012 ; 16 :206.
142. Taccone FS, Stordeur P, De Backer D, Creteur J, Vincent JL. Gammaglobulin levels in patients with community-acquired septic shock. *Shock* 2009 ; 32 :379-385.
143. McPherson RA, Pingus MR : *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 21st ed. Philadelphia, PA : W.B. Saunders, 2007.
144. Myrianthefs PM, Boutzouka E, Baltopoulos GJ. Gammaglobulin levels in patients with communityacquired septic shock. *Shock* 2010 ; 33 :556-557 ; author replay 557.
145. Venet F, Gebeile R, Bancel J,Guignant C, Poitevin-Later F, malcus C, Lepape A, Monneret G. Assessment of plasmatic immunoglobulin G, a and M levels in septic patients. *Int Immunopharmacol* 2011 ;11 : 2086-2090.
146. Tamayo E, Fernandez A, Almansa R, Carrasco E, Goncalves L, Heredia M, Andaluz-Ojeda D, March G,Rico L, Gomez-Herrerias JI, de Lejarazu RO, Bermejo-Martín JF. Beneficial role of endogenous immunoglobulin subclasses and isotypes in septic shock. *J Crit Care* 2012 ; 27 :616-622.
147. Andaluz-Ojeda D, Iglesias V, Bobillo F, Almansa R, Rico L, Gandia F, Loma AM, Nieto C, Diego R, Ramos E, Nocito M, Resino S, Eiros JM, Tamayo E, de Lejarazu RO, Bermejo-Martin JF. Early natural killer cell counts in blood predict mortality in severe sepsis. *Crit Care* 2011 ; 15 :R243.
148. Bermejo-Martin JF, Rodriguez-Fernandez A, Herran-Monge R, Andaluz-Ojeda D, Muriel-Bombin A, Merino P, Garcia-Garcia MM, Citores R, Gandia F, Almansa R, Blanco J, Group G. Immunoglobulins IgG1, IgM and IgA : a synergistic team influencing survival in sepsis. *J Intern Med* 276 :404-412.
149. Shankar-Hari M, Culshaw N, Post B, Tamayo E, Andaluz-Ojeda D, Bermejo-Martín JF, Dietz S, Werdan K, Beale R, Spencer J, Singer M. Endogenous IgG hypogammaglobulinaemia in critically ill adults with sepsis : systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med* 2015 ; 41 :1393-1401.

150. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis : a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach. *Lancet Infect Dis* 2013 ; 13 : 260-8.
151. Hotchkiss RS, Swanson PE, Freeman BD, Tinsley KW, Cobb JP, Matuschak GM, et al. Apoptotic cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit Care Med* 1999 ; 27 : 1230-51.
152. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiegel Jr RE, Hui JJ, Chang KC, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol* 2001 ; 166 :6952-63.
153. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Grayson MH, Osborne DF, Wagner TH, et al. Depletion of dendritic cells, but not macrophages, in patients with sepsis. *J Immunol* 2002 ; 168 :2493-500.
154. Di Rosa R, Pietrosanti M, Luzi G, Salemi S, D'Amelio R. Polyclonal intravenous immunoglobulin : An important additional strategy in sepsis ? *European Journal of Internal Medicine* 2014 ;25 :511-516.
155. Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation. *Science* 2006 ; 313 :670-3.
156. Sriskandan S, Ferguson M, Elliot V, Faulkner I, Cohen J. Human intravenous immunoglobulin for experimental streptococcal toxic shock : bacterial clearance and modulation of inflammation. *J Antimicrob Chemother* 2006 ;58 :117-24.
157. Samuelsson A, Towers TL, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science* 2001 ;291 :484-6.
158. Kawasaki H, Hayashi K, Awai M. Disseminated intravascular coagulation (DIC) : immunohistochemical study of fibrin-related materials (FRMs) in renal tissues. *Acta Pathol Jpn* 1987 :37 :77-84.
159. Maddur MS, Vani J, Hegde P, Lacroix-Desmazes S, Kaveri S, Bayry J. Inhibition of differentiation, amplification, and function of human TH17 cells by intravenous immunoglobulin. *J Allergy Clin Immunol* 2011 ; 127 :823-30.
160. Kessel A, Ammuri H, Peri R, Pavlotzky ER, Blank M, Shoenfeld Y, et al. Intravenous immunoglobulin therapy affects T regulatory cells by increasing their suppressive function. *J Immunol* 2007 ; 179 :5571-5.

161. Ephrem A, Chamat S, Miquel C, Fisson S, Mouthon L, Caligiuri G, et al. Expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells by intravenous immunoglobulin : a critical factor in controlling experimental autoimmune encephalomyelitis. *Blood* 2003 ; 111 :715-22.
162. Trinath J, Hegde P, Sharma M, Maddur MS, Rabin M, Vallat JM, et al. Intravenous immunoglobulin expands regulatory T cells via induction of cyclooxygenase-2-dependentsprostaglandin E2 in human dendritic cells. *Blood* 20013 ; 122 :1419-27.
163. Kalaga R, Li L, O'Dell JR, Paul S. Unexpected presence of polyreactive catalytic antibodies in IgG from unimmunized donors and decreased levels in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 1995 ; 155 : 2695-702.
164. Planque S, Bangale Y, Song XT, Karle S, Taguchi H, Poindexter B, et al. Ontogeny of proteolytic immunity : IgM serine proteases. *J Biol Chem* 2004 ; 279 :14024-32.
165. Wentworth JP, McDunn JE, Wentworth AD, et al. Evidence for antibody-catalyzed ozone formation in bacterial killing and infalmmation. *Science* 2002 ; 298 :2195-9.
166. Friboulet A, Avasse B, Débat H, Thomas D. A possible role of catalytic antibodies in metabolism. *Immunol Today* 1999 ; 20 :474-5.
167. Lacroix-Desazes S, Bayry J, Kaveri SV, Hayon-Sonsino D, Thorenoor N, Charpientier J, et al. High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcom in sepsis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 :4109-13.
168. Salinas L, Fica A. Inmunoglobulins in sepsis and septic shock. *Rev Chil Infect* 2005 ; 22 (1) :21-31.
169. Saeedian M, Randhawa I. Immunoglobulin Replacement Therapy : A twenty-year Review and Current update. *Int Arch Allergy Immunol* 2014 ;164 :151-166.
170. Cavazzuti I, Serafini G, Busani S, Rinaldi L, Biagioni E, Buoncristiano M, Girardis M. Early therapy with IgM-enriched polyclonal immunoglobulin in patients with septic shock. *Intensive Care Med* 2014 ; 40 : 1888-1896.
171. Werdan K, Pilz G, Bujdoso O, Fraunberger P, Neeser G, Schmieder RE, Viell B, Marget W, Seewald M, Walger P, et al. Score-based immunoglobulin G therapy of patients with sepsis : the SBITS study. *Crit Care Med* 2007 ; 35 : 2693-2701.
172. Hentrich M, Fehnle K, Ostermann H, Kienast J, Cornely O, Salat C, Ubelacker R, Buchheidt D, Behre G, Hiddermann W, Schiel X. IgMA-enriched immunoglobulin in

- neutropenic patients with sepsis syndrome and septic shock : a randomized, controlled, multiple-center trial. *Crit Care Med* 2006 ; 34 :1319-1325.
173. Rodriguez A, Rello J, Neira J, Maskin B, Ceraso D, Vasta L, Palizas F. Effects of high-dose of intravenous immunoglobulin and antibiotics on survival for severe sepsis undergoing surgery. *Shock* 2005 ; 23 :298-304.
174. Darenberg J, Ihendyane N, Sjolín J, Aufwerber E, Haidl S, Follin P, Andersson J, Norrby-Teglund A. Intravenous immunoglobulin G therapy in streptococcal toxic shock syndrome : a European randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2003 ;37 :333-340.
175. Tugrul S, Ozcan PE, Akinci O, Seyhun Y, Cagatay A, Cakar N, Esen F. The effects of IgM-enriched immunoglobulin preparations in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2002 ;6 :357-362.
176. Karatzas S, Boutzouka E, Venetsanou K, Myrianthefs P, Fildisis G, Baltopoulos G. The effects of IgM-enriched immunoglobulin preparations in patients with severe sepsis : another point of view. *Crit Care* 2002 ;6 :543-544 ; author reply 545.
177. Masaoka T : Combination therapy of antibiotics and intravenous immunoglobulin. *Nippon Rinsho* 2001 ; 59 :781-784.
178. Dominioni L, Bianchi V, Imperatori A, Minoia G, Dionigi R. High-dose intravenous IgG for treatment of severe surgical infections. *Digestive Surg* 1996 ; 13 :430-434.
179. Behre G, Ostermann H, Schedel I, Helmerking M, Schiel X, Rothenburger M, Geiger S, Dedroogh M, Bockelmann D, Wormann B, Kienast J, Hiddermann W, Abakumov MM. Endotoxin concentrations and therapy with polyclonal IgM-enriched immunoglobulins in neutropenic cancer patients with sepsis syndrome : pilot study and interim analysis of a randomized trial. *Antiinfective Drugs Chermother* 1995 ; 13 :129-134.
180. Schedel I, Dreikhausen U, Nentwig B, Hockenschnieder M, Rauthmann D, Balikcioglu S, Coldewey R, Deicher H. Treatment of gram-negative septic shock with an immunoglobulin preparation : a prospective, randomized clinical trial. *Crit Care Med* 1991 ; 19 :1104-1113.

181. Dominioni L, Dionigi R, Zanello M, Chiaranda M, Dionigi R, Acquarolo A, Ballabio A, Sguotti C. Effects of high-dose IgG on survival of surgical patients with sepsis scores of 20 or greater. *Arch Surg*. 1991; 126:236-40.
182. Wesoly c, Kipping N, Grundmann R. Immunoglobulin therapy of postoperative sepsis. *Zeitschrift fur experimentelle Chirurgie der Cesellschaft fur Chirurgie der DDR* 1990 ; 23 :213-216.
183. Grundmann R, Hornung M. Immunoglobulin therapy in patients with endotoxemia and postoperative sepsis – a prospective randomized study. *Prog Clin Biol Res* 1988 ;272 :339-349.
184. De Simone C, Delogu G, Corbetta G. Intravenous immunoglobulins in association with antibiotics : a therapeutic trial in septic intensive care unit patients. *Crit Care Med* 1988 ; 16 :23-26.
185. Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JB. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev* 2000 ;2 :CD001090.
186. Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JB. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev* 2002 ;1 :CD001090.
187. Pildal J, Gotzsche PC. Polyclonal immunoglobulin for treatment of bacterial sepsis : a systematic review. *Clin Infect Dis* 2004 ;39 :38-46.
188. Laupland KB, Kirkpatrick AW, Delaney A. Polyclonal intravenous immunoglobulin for the treatment of severe sepsis and septic shock in critically ill adults : a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2007 ; 35 :2686-2692.
189. Kreyman KG, de Heer G, Nierhaus A, Kluge S. Use of polyclonal immunoglobulin as adjunctive therapy for sepsis or shock in critically ill adults : a systematic review and meta-analysis. *Crit Care Med* 2007 ;35 :2677-2685.
190. Turgeon AF, Hutton B, Fergusson DA, McIntyre L, Tinmouth AA, Cameron DW, et al. Meta-analysis : intravenous immunoglobulin in critically ill adult patients with sepsis. *Ann Intern Med* 2007 ; 146 :193-203.
191. Giamarellos-Bourboulis EJ, Apostolidou E, Lada M, Perdios I, Gatselis NK, Tsangaris I, Georgitsi M, Bristianou M, Kanni T, Sereti K, Kyprianou MA, Kotanidou A,

- Armaganidis A; Hellenic Sepsis Study Group. Kinetics of circulating immunoglobulin M in sepsis: relationship with final outcome. *Crit Care*. 2013 Oct 21;17(5):R247.
192. Binder CJ. Natural IgM antibodies against oxidation-specific epitopes. *J Clin Immunol* 2010; 30: S56-60.
193. Racine R, Winslow GM: IgM in microbial infections: taken for granted? *Immunol Lett* 2009, 125:79-85.
194. Justel M, Socías L, Almansa R, Ramírez P, Gallegos MC, Fernández V, Gordon M, Andaluz-Ojeda D, Nogales L, Rojo S, Vallés J, Estella A, Loza A, León C, López-Mestanza C, Blanco J, Berezo JÁ, Rosich S, Cillóniz C, Torres A, de Lejarazu RO, Martín-Loeches I, Bermejo-Martín JF. IgM levels in plasma predict outcome in severe pandemic influenza. *J Clin Virol*. 2013; 58: 564-7.
195. Olas K, Butterweck H, Tescher W, Schwarz HP, Reipert BM. Immunomodulatory properties of human serum immunoglobulin A : anti-inflammatory and pro-inflammatory activities in human monocytes and peripheral blood mononuclear cells. *Clin Exp Immunol* 2005 ; 140 :478-490.
196. Berlot G, Vassallo MC, Busetto N, Bianchi M, Zornada F, Rosato I, Tartamella F, Prisco L, Bigotto F, Bigolin T, Ferluga M, Batticci I, Michelone E, Borelli M, Viviani M, Tomasini A. Relationship between the timing of administration of IgM and IgA enriched immunoglobulins in patients with severe sepsis and septic shock and the outcome: a retrospective analysis. *Journal of Critical Care* 2012 ;27 : 167-171.
197. Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JB. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis, severe sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev* 2010 ;9 :CD001090.
198. Alejandria MM, Lansang MA, Dans LF, Mantaring JB. Intravenous immunoglobulin for treating sepsis, severe sepsis and septic shock. *Cochrane Database Syst Rev* 2013 ;9 :CD001090.
199. Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low-birth-weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2001 ; 2 :CD000361.
200. Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for suspected or subsequently proven infection in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2004 ; 1 :CD001239.

201. Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for suspected or subsequently proven infection in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2010 ; 3 :CD001239.
202. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, Bion J, Parker MM, Jaeschke R, et al. Surviving sepsis campaign : international guidelines for management of severe sepsis and septic shock : 2008. *Intensive Care Med* 2008 ;34 ;17-60.
203. INIS Collaborative Group, Brocklehurst P, Farrell B, King A, Juszczak E, Darlow B, et al. Treatment of neonatal sepsis with intravenous immune globulin. *N Engl J Med* 2011 ;365 :1201-1211.
204. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving sepsis campaign : international guidelines for management of severe sepsis and septic shock :2012. *Crit Care Med* 2012 ;41 :580-637.
205. Hooper JA. Intravenous immunoglobulins: evolution of commercial IVIG preparations. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2008 Nov;28(4):765-78.
206. Jefferis R, Kumararatne DS. Selective IgG subclass deficiency: quantification and clinical relevance. *Clin exp Immunol* 1990; 81, 357-367.
207. Rodrigo MJ, Codina R, de Gracia J, Morell F, Pascual C. Valores normales de las subclases de la inmunoglobulina G en una población de adultos. Su importancia en el estudio de los déficits de las mismas. *Med Clin* 1992 ; 98 : 166-170.
208. Herer B, Labrousse F, Mordelet-Dambrine M, et al. Selective IgG subclass deficiencies and antibody responses to pneumococcal capsular polysaccharide antigen in adult community-acquired pneumonia. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142:854-857.
209. Ekdhal K, Branconier JH, Rollof J. Recurrent pneumonia : a review of 90 adult patients. *Scand J Infect Dis* 1992 ;24 :71-76.
210. de la Torre MC, Bolívar I, Vendrell M, de Gracia J, Vendrell E, Rodrigo MJ, et al. Serum immunoglobulins in the infected and convalescent phases in community-acquired pneumonia. *Respir Med* 2013 ;107 :2038-45.
211. Hukuhara H, Shigeno Y, Saito A. Serum levels of healthy adult humans and changes of IgG subclass levels between infected and convalescent phase in respiratory infections. *Kansenshogaku-Zasshi* 1991; 65: 564-570.

212. Gordon CL, Johnson PD, Permezel M, Holmes NE, Gutteridge G, McDonald CF, Eisen DP, Stewardson AJ, Edington J, Charles PG, Crinis N, Black MJ, Torresi J, Grayson ML. Association between severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection and immunoglobulin G(2) subclass deficiency. *Clin. Infect. Dis.* 2010. 50:672– 678.
213. Gordon CL, Holmes NE, Grayson ML, Torresi J, Johnson PD, Cheng AC, Charles PG. Comparison of immunoglobulin G subclass concentrations in severe community-acquired pneumonia and severe pandemic 2009 influenza A (H1N1) infection. *Clin Vaccine Immunol.* 2012; 19(3):446-8.
214. Söderström T, Söderström R, Andersson R, Lindberg J, Hanson LA. Factors influencing IgG subclass levels in serum and mucosal secretions. *Monogr Allergy* 1988; 23:236-43.
215. Charlton B, Schindhelm K: The effect of extracorporeal antibody removal on antibody synthesis and catabolism in immunized rabbits. *Clin Exp Immunol* 1985; 60:457-464.
216. Charlton B, Schindhelm K, Smeby LC, Farrell PC: Analysis of immunoglobulin G kinetics in the non-steady state. *J Lab Clin Med* 1985; 105:312-320.
217. Petras G, Meretey K: Serum IgG, IgA and IgM changes during infectious complications induced by facultative pathogenic gram-negative bacteria. *Zentralbl Bakteriol [Orig A]* 1979; 245:96-105.
218. Goldie AS, Fearon KC, Ross JA, Barclay GR, Jackson RE, Grant IS, Ramsay G, Blyth AS, Howie JC: Natural cytokine antagonists and endogenous antiendotoxin core antibodies in sepsis syndrome. The sepsis Intervention Group. *JAMA* 1995; 274:172-177.
219. Bennett-Guerrero E, Barclay GR, Weng PL, Bodian CA, Feieman DE, Vela-Cantos F, Mytehn MG. Endotoxin-neutralizing capacity of serum from cardiac surgical patients. *J Cardiothorac Vasc Anest* 2001; 15:451-454.
220. Shroeder Jr HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:41-52.
221. Rodrigo MJ, Vendrell M, Cruz MJ, Miravittles M, Pascual C, Morell F, De Gracia J. Utility of the antibody response to a conjugated *Haemophilus influenzae* type b

- vaccine for diagnosis of primary humoral immunodeficiency. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1462-1465.
222. Chan et al. Chan JF, To KK, Tse H, Lau CC, Li IW, Hung IF, Chan KH, Cheng VC, Lai TS, Woo PC, Chan EY, Yuen KY. The lower serum immunoglobulin G2 level in severe cases than in mild cases of pandemic H1N1 2009 influenza is associated with cytokine dysregulation. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18 :305-10
223. Pan Q, Hammarström L. Molecular basis of IgG subclass deficiency. *Immunol Rev* 2000 ; 178 :99-110.
224. Almansa R, Justel M, Socias L, Ramírez P, Andaluz-Ojeda D, Estella A, Loza A, Blanco J, Berezo JÁ, Rosich S, Cillóniz C, Torres A, de Lejarazu RO, Martín-Loeches I, Bermejo-Martin JF. IgA level in plasma as a differential factor for influenza infection in severe viral pneumonia. *J Clin Virol*. 2014; 59:135-6.
225. Feldman C, Mahomed aG, Maida P, et al. IgG subclasses in previously healthy adult patients with acute community acquired pneumonia. *S afr Med J* 1996 ; 86 :600-2.
226. CIGMA Welte T, Dellinger RP, Ebel H, et al. Concept for a study design in patients with severe community-acquired pneumonia: A randomized controlled trial with a novel IGM-enriched immunoglobulin preparation – the CIGMA study. *Respir Med* 2015; S0954-6111 (15)00107-9. doi 10.1016/j.rmed.2015.03.008.
227. Almansa R, Tamayo E, Andaluz-Ojeda D, Nogales L, Blanco J, Eiros JM, Gomez-Herreras J, Bermejo-Martin JF. The original sins of clinical trials with intravenous immunoglobulins in sepsis. *Crit Care* 2015 ;19(1):90.