



ESTUDIO CONTROLADO PARA EVALUAR LA RESPUESTA DE IGE Y SUBCLASES DE IGG EN INFECCIONES DERMATOLÓGICAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Autores: Dr. Vicente J. Hernández Moreno¹, Dr. José A. Rodríguez Rodríguez², Lic. Carmen de las Mercedes Rodríguez Vera³, Dra. CM. Manuela Herrera Martínez⁴, Dr. CM. Oliver Pérez Martín⁵.

1-Universidad de Ciencias Medicas de Villa Clara. Cuba (0000-0001-7249-9398)

2-Hospital Universitario Clínico - Quirúrgico Arnaldo Milian Castro. Villa Clara. Cuba (0000-0002-2823-3733)

3-Sectorial Municipal de salud. Cifuentes. Villa Clara. Cuba (0000-0003-0411-2774)

4- Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Cuba. (0000-0002-6556-2771)

5-Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas. Victoria de Girón. La habana > Cuba. (0000-0001-6047-3764)

RESUMEN

Se determinaron las subclases (IgG) y los niveles de (IgE) en suero de 25 enfermos con lesiones cutaneas por Staphylococcus aureus, y 25 controles sanos. Se elaboró un antígeno (Bacterina de S. aureus) y en su enfrentamiento se procedió con la metodología de normalización y validación de ensayos inmunoenzimáticos para cuantificar IgG humana. Los resultados se expresaron en Densidades Ópticas (DO) y gráficamente como la relación matemática (IgG1/3) para Th1 e (IgE/IgG4) para Th2, en el suero de los pacientes. Se obtuvo respuesta IgG1 e IgG4 en pacientes y controles y respuesta IgE anti S.aureus en pacientes. Se concluyó que como S.aureus es flora normal de piel, los controles han contactado con S.aureus, desarrollando respuesta Th1 (IgG1) y anticuerpos



bloqueadores (IgG4). Contrariamente, los enfermos desarrollan respuesta Th2 (IgE) y la infección.

Palabras Claves: **Subclases de IgG, Forunculosis, Patrones de respuesta inmune.**

INTRODUCCIÓN

Los estafilococos se encuentran entre las bacterias patógenas más versátiles y exitosas; aunque se han introducido numerosos antibióticos antiestafilocócicos, el control de las infecciones continúa siendo un importante problema médico, debido al rápido desarrollo de resistencia a los antibióticos ^(1; 2).

La infección de la piel por estafilococo es la más común de todas las infecciones bacterianas en el hombre. La forma superficial de estas es la foliculitis, en la cual se observa una infección del folículo piloso. Una extensión hacia el tejido subcutáneo da como resultado la formación de una lesión supurativa local llamada forúnculo. Aproximadamente el 20% de los pacientes con forúnculo presentan una o más recidivas durante el año siguiente y cierto número presenta forunculosis recidivante crónica durante meses o años ⁽¹⁾.

El *S. aureus* es un germen comensal y es comúnmente parte de la flora microbiana normal en fosas nasales sujeto a mecanismos de tolerancia en estas localizaciones anatómicas no causan ningún tipo de enfermedad aparente ⁽³⁾. No obstante produce gran número de factores de virulencia como toxinas que pueden contribuir a su patogenicidad, lo cual contribuye a que la respuesta inmunitaria contra este germen sea inadecuada, ya que una infección primaria no protege al individuo contra la reinfección. Las cepas de *S.aureus* que tienen cápsula, generan anticuerpos protectores, pero estas cepas no son patógenas. Se ha demostrado que los pacientes que desarrollan formas graves de infección tienen bajos niveles de IgG y que los que desarrollan mejor mecanismo de respuesta poseen valores adecuados de este anticuerpo, los pacientes portadores de



robustos mecanismos de memoria inmune al *S. aureus* poseen mecanismos de protección a complicaciones serias de la invasión bacteriana⁽⁴⁾.

La identificación de condiciones genéticas que predisponen a las infecciones por *S. aureus* revelan nuevas interioridades de la respuesta inmune, con especial relevancia las de la piel, pacientes que sufren de infecciones cutáneas recurrentes severas poseen limitaciones con la expresión y función del receptor de IL-1 (IL-1R) y/o señalización de Toll-like receptor (TLR) y como resultado del factor de diferenciación mieloide primaria 88 (MYD88) o la deficiencia de IL-1R-asociado a kinasa 4 (IRAK4) o depresión de respuesta de células T cooperadoras 17 (T_H17 cell) trae como resultado el síndrome de hyper-IgE y su alta predisposición a las infecciones por *S. aureus* ^(2,5).

Los reportes de infecciones por *S. aureus* en el mundo se han incrementado; se sospecha que las condiciones que propician las epidemias son multicausales y para el estudio del fenómeno, se deben contemplar aspectos inherentes al medio ambiente, al germen y al hospedero. La caracterización del patrón de respuesta inmune Th₁-Th₂, según subclases de IgG, y valores de IgE expresado en pacientes y controles, es nuestro propósito. No siempre la alergia es consecuencia de la IgE y muchas reacciones alérgicas se desarrollan en ausencia de alérgenos. La IgG4 tiene un papel fundamental en los mecanismos naturales de control de la atopia y es el camino favorable que puede tener la inmunoterapia contra las alergias.

OBJETIVOS

- Describir el comportamiento de las subclases de IgG en pacientes sanos y enfermos.
- Determinar el comportamiento de la respuesta de la IgE anti *S.aureus* en pacientes y controles.



MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio analítico transversal conformado por dos grupos de 25 individuos cada uno.

El primer grupo estuvo integrado por 25 pacientes, de cualquier edad, remitidos a consulta de inmunología por los especialistas de sus áreas de salud, por presentar lesiones cutáneas recidivantes y rebeldes al tratamiento, en las cuales se había hecho el aislamiento previo de *S. aureus*. El segundo grupo fue conformado por 25 individuos supuestamente sanos, cuya muestra fue proveniente del banco de sangre.

A todos los pacientes se les indicó la toma de muestra de suero, para la determinación de las subclases de inmunoglobulina G (IgG) y los niveles de IgE. La toma de muestra se realizó en ayunas, y se les extrajo 5 ml de sangre en tubo seco, la cual posteriormente se separó y decantó por centrifugación, para obtener (1,5ml) de suero, que fue alicuotado y congelado a -40°C , y luego enviado al Instituto Carlos J. Finlay, para la realización del ELISA.

Se elaboró un antígeno (Bacterina de *S. aureus*), aplicando los parámetros básicos para el cultivo de las cepas estándar^(6;7), utilizándose como medio de cultivo el agar Mueller Hinton (DIFCO), caldo B.H.I (Infusión-cerebro-corazón), para la estandarización de la curva de crecimiento de las cepas patrón de *S. aureus*.

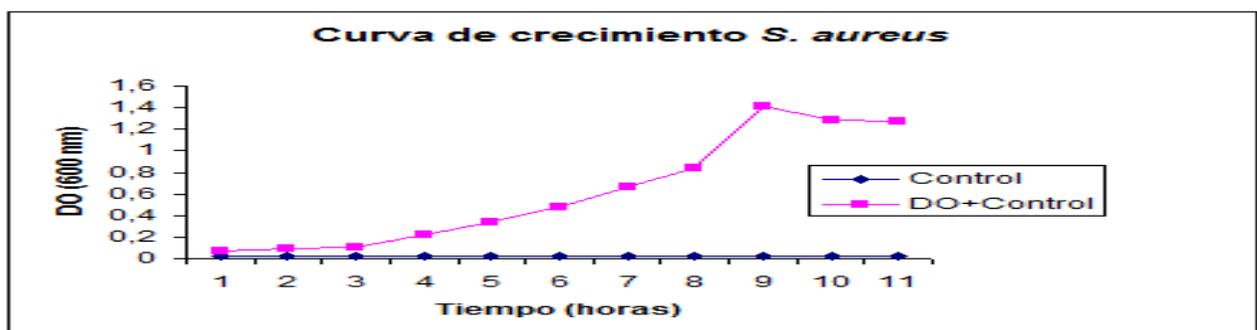


Figura 1: Estandarización de la curva de crecimiento de las cepas patrón de *S. aureus*.



En su enfrentamiento se procedió con la metodología de normalización y validación de ensayos inmunoenzimáticos para cuantificar IgG humana (Xenia Ferriol y col.,2000) ⁽¹⁰⁾.

Los resultados se expresaron en densidad óptica (DO), y gráficamente con la relación matemática (IgG_{1/3}) para Th₁ e (IgE/IgG₄) para Th₂, en el suero de los pacientes ⁽¹¹⁾.

Para el análisis estadístico, de los resultados del trabajo, se utilizó una microcomputadora Acer Intel Pentium, donde se instaló el paquete estadístico **Prisma**, oficializado por la Sociedad Cubana de Inmunología. Se utilizó una base de datos, confeccionada a partir de los resultados obtenidos en el presente estudio, para obtener los gráficos que ilustran el comportamiento de cada una de las variables estudiadas. Previo a la comparación de las variables, según grupo, se analizó la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro Wilk, al no existir esta se utilizó la alternativa no paramétrica U de Mann-Witney, para explorar diferencias en el rango medio de las variables.

RESULTADOS

1-Se obtuvo respuesta IgE anti *S. aureus* en pacientes.

A esta longitud de onda (405nm), la lectura del equipo ELISA evidenció una mayor dispersión en los pacientes, siendo altamente significativos respecto al grupo control.

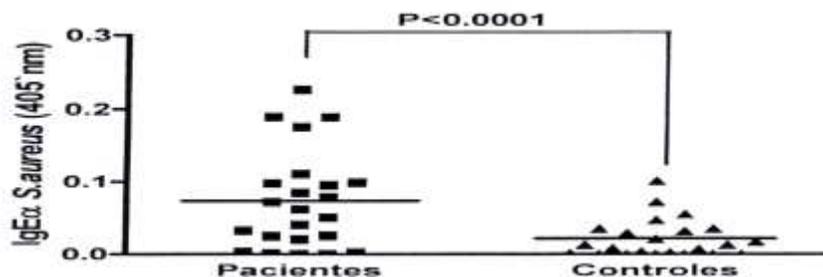


Figura 2: Densidad óptica (DO) de la lectura del anti-suero IgE anti *S. áureus* de las muestras de pacientes.



2- Se obtuvo respuesta IgG₁ e IgG₄ en pacientes y controles

A esta longitud de onda, la lectura del equipo ELISA, evidenció una mayor dispersión en los controles negativos, tanto para los anti-sueros de IgG₁ como IgG₄, siendo altamente significativos en ambos casos.

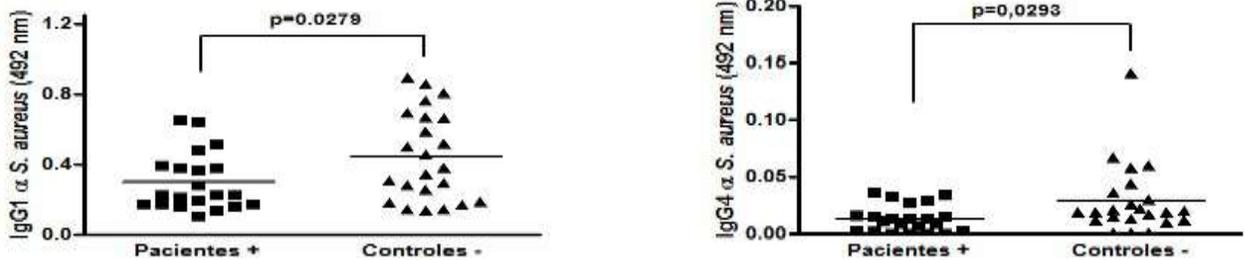


Figura 3: Densidad óptica (DO) de la lectura del anti-suero IgG₁ e IgG₄ anti S. áureus de las muestras de pacientes y controles negativos.

3-No se obtuvo respuesta IgG₂ e IgG₃ en pacientes y controles.

No hubo significación en cuanto al valor de la DO determinada al analizar los anti-sueros IgG₂ e IgG₃ anti S. áureus, en ninguno de los grupos estudiados.

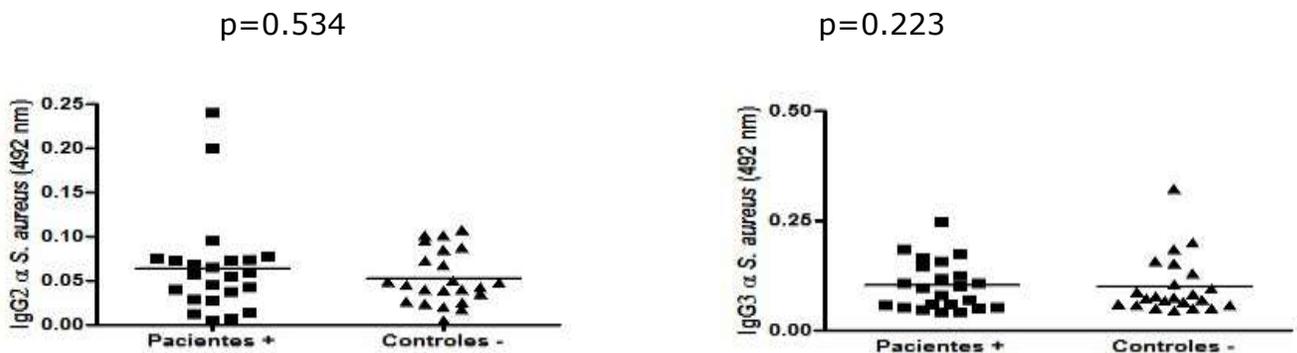


Figura 4: Densidad óptica (DO) de la lectura del anti-suero IgG₂ e IgG₃ anti S. áureus de las muestras de pacientes y controles negativos



DISCUSIÓN

Respuesta IgE anti *S. aureus*

La literatura consultada sobre la temática es bastante escasa, no obstante, la predisposición del individuo alérgico, a padecer infecciones por *Staphylococcus aureus* en cualquier forma de presentación, está ampliamente descrita por Isabella Nuñez ⁽¹²⁾, en su artículo *Staphylococcus aureus* y alergias. ¿Mito o realidad?, y coincide con nuestros resultados, donde se obtuvo una evidente respuesta IgE anti-estafilocócica en el grupo de pacientes enfermos. Aunque no se controló la variable Nivel de predisposición alérgica en los datos primarios de la investigación, si se conoce que un porcentaje elevado de los pacientes enfermos, presentan algún grado de atopía, y al enfrentarse a determinado antígeno, activan la respuesta del patrón Th₂, con una consecuente elevación de los niveles de IgE, lo que trae consigo una respuesta inmune alérgica ⁽¹³⁾. Por su parte los pacientes sanos no desarrollaron una respuesta Th₂ evidente ante el contacto con el antígeno, por lo que sus niveles de IgE se mantuvieron estables; esto se debe a que el *S. aureus* es un componente normal de la biota de la piel, y estos pacientes ya han estado previamente expuestos al antígeno estafilocócico, y no reaccionan ante él, a menos que la piel, como primera barrera de defensa, se vea comprometida, y en este caso el propio sistema inmune desarrolla mecanismos de defensa inducidos por el patrón de respuesta Th₁, en lugar de un cuadro alérgico mediado por el patrón Th₂. Tal vez como la población cubana tiene un alto sustrato alérgico, este sea uno de los factores más importantes que coadyuvan a la alta expresión de dicho patrón. Se ha demostrado que las células Th₁₇ participan de manera importante en el desarrollo de varias enfermedades alérgicas las cuales de manera clásica se habían considerado inducidas por las células Th₁ y Th₂. El *S. aureus* es capaz de activar a la IL-17 en las células dendríticas y en los monocitos ⁽¹⁴⁾, cuyo rol es fundamental en el reclutamiento de neutrófilo y en la defensa del organismo contra las infecciones cutáneas por *S. aureus*, por lo que lo que la deficiencia de Th₁₇ pudiera explicar el incremento de la susceptibilidad de los pacientes con síndrome de hiper-IgE y otras dermatologías atópicas a padecer una infección por *S. aureus* ⁽¹⁵⁾.



Respuesta IgG₁ e IgG₄ en pacientes y controles.

Nuestros resultados indican que el grupo control ha estado previamente expuesto al *S. aureus*, ya que este microorganismo forma parte de la biota de la piel; y por tanto, ha desarrollado una respuesta hacia el patrón Th₁ (IgG₁), y anticuerpos bloqueadores (IgG₄), probablemente como resultado de una prolongada estimulación antigénica, controlando la entrada y colonización de la bacteria. Por el contrario los pacientes enfermos desarrollaron una respuesta Th₂, con una consecuente producción de IgE, y la infección. Nuestros resultados coinciden con Lucas AH ⁽¹⁶⁾, quien plantea que predominan las subclases IgG₁ e IgG₄ como respuesta a gran variedad de alérgenos. Estos patrones son reproducibles entre individuos normales y atópicos, que han sido inmunizados de manera terapéutica o natural (previa exposición al estafilococo en la piel). Nuestros resultados también coinciden con los obtenidos por Monteil M.A. ⁽¹⁷⁾, donde el nivel de IgG₁ fue significativamente alto en pacientes atópicos con infecciones por *S. aureus*, a pesar de que nuestro estudio se basó en una muestra heterogénea de pacientes atópicos y sanos. Por otra parte, Ashbee H.R ⁽¹⁸⁾, en su estudio sobre las subclases de IgG específicas contra *S. epidermidis* y *Propionibacterium acnes* en pacientes con acné vulgaris, no obtuvieron una respuesta significativa ante esta especie de estafilococo, cuyos niveles de las subclases de IgG se mantuvieron en el mismo rango y no difirieron entre grupos, evidenciando una baja patogenicidad del *S. epidermidis* en esta enfermedad, aunque si obtuvieron diferencias significativas en los niveles de IgG anti-*P. acnes*, donde la IgG₁ fue significativamente alta, lo que puede deberse a la alta concentración de esta subclase en suero, así como a la sensibilidad de los pacientes con un estado severo de la enfermedad. La respuesta IgG₄ se considera indicativa de exposición repetida o por largo tiempo a un antígeno. En un estudio realizado a portadores nasales, sanos, sanos no portadores e infectados en varias localizaciones de varios países, se constato respuesta IgG₁ y también IgG₄ pero con una alta variabilidad inter casos y el tipo de infección o la localización geográfica no revelaron un patrón de defensa conservado ^(19,20).



Respuesta IgG₂ e IgG₃ en pacientes y controles

De acuerdo a lo planteado por Timon D, la respuesta IgG₃ ha sido asociada con mecanismos de control y protección contra bacterias, virus y parásitos intracelulares y es un potente mediador de funciones efectoras tales como: la citotoxicidad mediada por células (ADCC), opsonofagocitosis, activación de complemento y neutralización. Posee características que la distinguen del resto de las subclases de IgG, región de la bisagra alargada, gran polimorfismo, flexibilidad molecular y sitios adicionales de glicosilación por lo que es muy promisorio para ser usado en la fabricación de vacunas contra estas infecciones ⁽²¹⁾.

Las subclases IgG₃ son ricas en anticuerpos contra proteínas tales como las toxinas producidas por las bacterias de la difteria y tétanos, así como anticuerpos contra proteínas virales. En contraste, los anticuerpos contra el revestimiento (cápsula) de polisacáridos (azúcares complejos) de algunas bacterias que causan enfermedades (e.g. neumococo y *Haemophilus influenzae*) son predominantemente del tipo IgG₂ ⁽²²⁾. La IgG₂ posee propiedades terapéuticas diferentes de la IgG₁, IgG₃ y IgG₄. La IgG₂ es la segunda subclase de IgG más abundante, con capacidad de unión a receptores FcγRII/FcγRIII, pero no al FcγRI o receptor C1q del complemento ⁽²³⁾.

Nuestro estudio no arrojó diferencias significativas entre los pacientes y el grupo control. La subclase IgG₃, a pesar de ser frecuente en la respuesta ante antígenos proteicos, presentan baja afinidad por la proteína A (SpA). Por otra parte, la superficie de la bacteria se encuentra recubierta por una cápsula de polisacárido, que por lo general posee escasa concentración de proteínas y péptidos pequeños, lo que podría explicar la poca activación de esta subclase frente a una infección por *S. aureus*.



CONCLUSIONES

Se observó respuesta IgG₁ e IgG₄ en ambos grupos, se obtuvo respuesta IgE anti *S. aureus* en pacientes y no se obtuvo respuesta IgG₂ e IgG₃ ni en pacientes ni controles, lo que es indicativo de una evidente respuesta IgE anti-estafilocócica en el grupo de pacientes, se debe continuar profundizando en la temática.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nowicka D.^a · Grywalska E.^b **Staphylococcus aureus and Host Immunity in Recurrent Furunculosis.** Review Article. *Dermatology* 2019;235:295–305 <https://doi.org/10.1159/000499184>
2. Lloyd S. Miller^{*‡} and John S. Cho^{*} **Immunity against Staphylococcus aureus cutaneous infections.** *Nat Rev Immunol.* 2011 Jul 1; 11(8): 505–518. Author manuscript; available in [PMC](#) 2018 Mar 26
3. Zhigang L, Adam G, (etal). **Immunomodulation and Disease Tolerance to Staphylococcus aureus.** *Pathogens.* 2015 Dec; 4(4): 793–815.
4. Sebastian Stentzel, Nandakumar S. **Specific serum IgG at diagnosis of Staphylococcus aureus bloodstream invasion is correlated with disease progression.** *Journal of Proteomics Volume 128*, 14 October 2015, Pages 1-7
5. Timothy H. Scott T.(et al) **Immunoglobulin G; structure and functional implications of different subclass modifications in initiation and resolution of allergy.** *Immun Inflamm Dis.* 2018 Mar; 6(1): 13–33. Published online 2017 Nov 21. doi: [10.1002/iid3.192](https://doi.org/10.1002/iid3.192)



6. McCarthy, D. H., D. F. Ahmed, K. A. Johnson and J. V. Bloom. 1983. **Aeromonas salmonicida: determination of an antigen associated with protective immunity and evaluation of an experimental bacterin.** J. of Fish Dis. 6, 155-174.
7. Curtis, C. F., Lamport, A. I., Lloyd, D. H. 2006. **Masked, controlled study to investigate the efficacy of a Staphylococcus intermedius autogenous bacterin for the control of canine idiopathic recurrent superficial pyoderma.** Vet. Dermatol. 17, 163-168.
8. Ferriol, Xenia et al. **Normalización y validación de ensayos inmunoenzimáticos para cuantificar IgG humana antileptospira serovares canicola, icterohaemorrhagiae copenhageni y pomona mozdok.** Vaccimonitor, Set 2001, vol.10, no.3, p.13-19. ISSN 1025-028X
9. Rodrigo M J, Miravittles M, Cruz M J, de Gracia J, Vendrell M, Pascual C, Morell F. **Characterization of specific immunoglobulin G (IgG) and its subclasses (IgG1 and IgG2) against the 10-valent pneumococcal vaccine in a healthy adult population: proposal for response criteria.** 1997 lin Diagn Lab Immunol. March; 4(2): 168-172.
11. Núñez, I., Peña J. K.; Quintana, M. E.; Suárez, N.; Vazquez, G.; Velazco R.; Marcano-Lozada, M. J., 2008: **Staphylococcus aureus y alergias. ¿Mito o realidad?** VITAE Academia Biomédica Digital, No. 34.
12. Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, Furusawa J, Ohtani M, Fujii H, Koyasu S. **Innate production of T(H)2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit(+)/Sca-1(+) lymphoid cells.** Nature. 2010 Jan 28;463(7280):540-4
13. Niebuhr, M.; Gathmann, M.; Scharonow, H.; Mamerow, D.; Mommert, S.; Balaji, H. & Werfel, T. 2011. **Staphylococcal alpha-toxin is a strong inducer of interleukin-17 in humans.** Infectious Immunology, 79:1615-1622.
14. Ishigame, H.; Kakuta, S.; Nagai, T.; Kadoki, M.; Nambu, A.; Komiyama, Y.; Fujikado, N.; Tanahashi, Y.; Akitsu, A.; Kotaki, H.; Sudo, K.; Nakae, S.; Sasakawa, C. & Iwakura, Y. 2009. **Differential roles of interleukin-17A and -17F in host defense against mucocutaneous bacterial infection and allergic responses.** Immunity, 30:108-119.



15. Lucas AH. 1990, IgG subclass-restricted immune responses to allergens. Springer Semin Immunopathol.; 12(4):385-400.
16. Monteil MA, Kaniuk AS, Hobbs JR., **Staphylococcal opsonization and anti-Staphylococcus aureus IgG subclass antibodies in patients with severe or recurrent S. aureus infections.** FEMS Microbiol Immunol. 1990 Dec;2(5-6):259-62.
17. Ashbee H.R., Muir S.R., Cunliffe W.J. and Ingham E., 1997: **IgG subclasses specific to Staphylococcus epidermidis and Propionihacterium acnes in patients with acne vulgaris.** British Journal of Dermatology: 136: 730-733
18. Jasper S, Stephanie D,(et al) **IgG4 Subclass-Specific Responses to Staphylococcus aureus Antigens Shed New Light on Host-Pathogen Interaction.** Infect Immun. 2015 Feb; 83(2): 492–501.
19. Timon D, Stephen J. R, (et al) Role of IgG3 in Infectious Diseases. **Trends of Immunity. Review| Volume 40, ISSUE 3, P197-211, March 01, 2019**
20. Christy A. Thomson. Molecular Immunology, in Encyclopedia of Immunobiology, 2016. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/immunoglobulin-g2>
21. [Gar Kay Hui](#)¹, [Antoni D. Gardener](#)², [Halima Begum](#)², [Jayesh Gor](#)³ and [Stephen J. Perkins](#)⁴. **The solution structure of the human IgG2 subclass is distinct from those for human IgG1 and IgG4 providing an explanation for their discrete functions.** First Published on May 14, 2019 doi: 10.1074/jbc.RA118.007134 jbc.RA118.007134