

Universidad Central de Venezuela

Facultad de Medicina

Comisión de Estudios de Postgrado

Curso de Especialización en Pediatría y Puericultura

Hospital “J. M. De Los Ríos”

INMUNIZACIÓN CON VACUNA NEUMOCOCCICA HEPTAVALENTE EN

NIÑOS DE ALTO RIESGO: RESPUESTA CLÍNICA E INMUNOLOGICA

Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al título de Especialista de Pediatría y

Puericultura

Caracas, 18 de junio 2012

Mijares R. Mariella J

Siverio B. Briseida C

Tutora: Dra. Berenice Del Nogal



Director del Curso: Dra. Olga Figueroa



Coordinadora del Curso: Dra. Morela Salazar

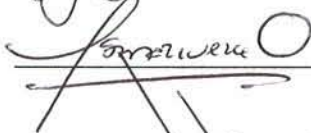


Asesores:

Dr. Jacobus de Waard

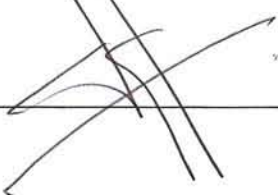


Lic. Ismar Rivera



Asesor Estadístico:

Lic. Douglas Angulo



Agradecimientos

Agradecemos a Dios todopoderoso, por darnos el don de la vida y la fortaleza de poder alcanzar nuestras metas.

A nuestros padres, por ser el pilar fundamental de nuestra vida, ejemplo de probidad.

A nuestros hermanos, verdaderos gestores de nuestra carrera y nuestros éxitos; esperando que hagan suyos nuestros éxitos.

Al Hospital de Niños “José Manuel de Los Ríos” cuna de la pediatría en Venezuela

Agradecemos al Servicio de Niños Sanos dentro de este hospital

A la Universidad Central de Venezuela.

A la Doctora Berenice del Nogal, quien es tutora del presente trabajo, por brindarnos su colaboración en el desarrollo de esta meta, y darnos sus excelentes conocimientos y apoyo.

A nuestros profesores por sus magníficas enseñanzas, muy especialmente aquellos que también nos brindaron su amistad y apoyo sin condiciones para hacer de nosotras una mejor profesional

A todos nuestros pacientes participantes en el estudio por ser cada uno de ellos inspiración de nuestro trabajo y verdadera fuente de conocimientos.

A todos nuestros amigos y a todas aquellas personas que indistintamente nos apoyaron a la realización de esta meta, MIL GRACIAS.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Resumen.....	4
Introducción.....	7
Planteamiento del problema.....	7
Justificación e importancia.....	8
Delimitaciones.....	8
Antecedentes.....	9
Marco teórico.....	10
Variables.....	16
Objetivos.....	16
Hipótesis.....	17
Métodos.....	18
Procedimientos.....	19
Tratamiento estadístico.....	21
Resultados.....	22
Discusión.....	50
Conclusiones.....	60
Recomendaciones.....	61
Referencias.....	62
Anexo I.....	69
Anexo II.....	72
Anexo III.....	80
Anexo IV.....	88

Briseida Siverio, C.I. 13.919.798. Sexo: Femenino, E-mail: carolinabsb24@hotmail.com. Telf: 04140265164. Dirección: Hospital J.M de Los Ríos. Especialización en Pediatría y Puericultura.

Mariella Mijares, C.I. 11.846.983. Sexo: Femenino, E-mail: vero25mc@hotmail.com. Tlf: 04143953510. Dirección: Hospital J.M de los Ríos. Especialización en Pediatría y Puericultura.

Tutor: Berenice Del Nogal, C.I. 4.426.177. Sexo: Femenino, E-mail: bernicedelnogal@gmail.com. Telf: 04166230725. Dirección: Hospital J.M de los Ríos. Especialista en Pediatría y Puericultura.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la respuesta clínica e inmunológica a la vacuna conjugada neumocócica heptavalente en niños con alto riesgo para enfermedad invasiva por neumococo.

Materiales y Métodos: estudio clínico, inmunológico, experimental, prospectivo, longitudinal, abierto y controlado. Se obtuvo hisopado nasofaríngeo y muestras sanguíneas; previo a la administración de cada dosis de VCN7. Los microorganismos se identificaron por métodos microbiológicos convencionales y la serotipificación por PCR múltiplex. En suero por método de ELISA se cuantificó niveles de anticuerpos IgG contra los siete serotipos de neumococo de la vacuna.

Resultados: Al medir la variación en la concentración de anticuerpos Ig G específicos a cada serotipo de neumococo antes y después de la vacunación, se evidenció en el grupo VIH un incremento significativo en la concentración de anticuerpos en los serotipos: 18C, 19F, 23F, 14 y 9V, en los serotipos 4 y 6B el incremento no fue estadísticamente significativo. En el grupo Anemia Drepanocítica; hubo incremento significativo para los serotipos 18C, 4, 6B, 23F, 14 y 9V; el serotipo 19F reveló un ascenso no significativo. Considerando respuesta protectora concentración superior a 0,35 microgramos/mL

Conclusiones: La VCN7; generó concentraciones protectoras de anticuerpos séricos específicos IgG para cada uno de los serotipos después de la segunda dosis, con ascenso en

concentraciones de anticuerpos de 1mcg/ml, después de una tercera dosis para todos los serotipos. La vigilancia clínica post-vacunación evidenció la eficacia de la vacuna en este grupo de estudio

Palabras Claves: grupos de riesgo para enfermedad invasiva neumocócica, vacuna neumocócica conjugada, inmunogenicidad.

SUMMARY

Objective: To evaluate the clinical and immunological response to heptavalente pneumococcal conjugate vaccine in children at high risk for invasive pneumococcal disease.

Materials and Methods: Clinical, immunological, experimental, prospective, longitudinal, open and controlled. We obtained nasopharyngeal swabs and blood samples, prior to each dose of VCN7. Microorganisms were identified by conventional microbiological methods and serotyping by multiplex PCR. In serum by ELISA was measured IgG antibody levels against the seven pneumococcal serotypes in the vaccine.

Results: By measuring the variation in the concentration of IgG antibodies specific to each serotype of pneumococcus before and after vaccination, was evident in the HIV group a significant increase in the concentration of antibodies in serotypes 18C, 19F, 23F, 14 and 9V, in serotypes 4 and 6B the increase was not statistically significant. In the Sickle Cell Anemia, there was significant increase for serotypes 18C, 4, 6B, 23F, 14 and 9V serotype 19F revealed a nonsignificant rise. Whereas protective response concentration greater than 0.35micrograms/mL

Conclusions: VCN7; generated protective levels of IgG specific antibodies for each serotype after the second dose, with elevated concentrations of antibodies 1mcg/ml, after a

third dose for all serotypes. Clinical surveillance after vaccination showed the effectiveness of the vaccine in this study group.

Keywords: risk groups for pneumococcal invasive disease, pneumococcal conjugate vaccine, immunogenicity.

INTRODUCCIÓN

En el presente estudio clínico inmunológico, experimental, prospectivo, longitudinal, abierto y controlado se determinara la inmunogenicidad de la vacuna conjugada neumocócica heptavalente en niños con alto riesgo (portadores de anemia drepanocítica, VIH) para enfermedad invasiva neumococcica con la finalidad de establecer el número de dosis de la vacuna que son necesarias para alcanzar concentración de anticuerpos protectores y así mismo se realizará vigilancia clínica post-vacunación después de recibir la última dosis de la vacuna conjugada neumocócica heptavalente.

Planteamiento del problema

En estudios de seroconversión realizados en niños pertenecientes a grupos de alto riesgo para infección por *Streptococcus Pneumoniae* como infección por VIH han mostrado bajas concentraciones de anticuerpos al comparar con niños no infectados. ⁽¹⁾ Debido a la morbilidad de niños de alto riesgo en nuestro centro hospitalario y que en nuestro país no hay antecedentes de estudios de seroconversión ante la vacuna VCP7 en este grupo de niños, definiéndose como grupo de alto riesgo aquellos portadores de inmunodeficiencias congénitas o que reciben terapia inmunosupresora por neoplasias, leucemias, linfomas, trasplantes de órganos sólidos, cardiopatía congénitas cianógenas o con tendencia a la insuficiencia cardiaca, neumopatía crónica, incluyendo asmáticos, que reciben altas dosis de corticoesteroides sistémicos, portadores de síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, fugas de líquido cefalorraquídeo, diabetes mellitus, niños con asplenia anatómica o funcional, enfermedad de células falciformes drepanocitosis, infección por el virus de inmunodeficiencia humana⁽²⁾; realizamos este estudio para determinar la inmunogenicidad

de la vacuna y poder predecir número de dosis efectivas para alcanzar concentración de anticuerpos adecuada; tampoco existen estudios de evaluación clínica de pacientes de alto riesgo posterior a la inmunización con vacuna neumococcica conjugada 7 valente.

Importancia y justificación:

Los anticuerpos anticapsulares neumocócicos declinan en más del 50% un año después de la vacunación, el riesgo de adquirir la enfermedad reaparece transcurrido este tiempo, los pacientes inmunosuprimidos están particularmente susceptibles a la infección en este periodo ⁽³⁾. Conocer la respuesta clínica e inmunológica a la vacuna antineumococica conjugada 7 valente en pacientes de alto riesgo permite establecer un esquema de inmunización efectivo para dichos pacientes. Este estudio pretende contribuir con la inclusión de la vacuna en el esquema oficial del Ministerio del Poder Popular para la Salud de nuestro País y de esta manera disminuir la morbimortalidad por enfermedad invasiva neumococcica en niños de alto riesgo, y así mejorar la calidad de vida de estos pacientes y contribuir a que no continúe siendo un importante problema de salud pública.

Delimitaciones:

El estudio se realizó en el servicio de Pediatría Integral “Niños Sano” del Hospital “J.M. de Los Ríos”, se incluyeron pacientes con condiciones inmunosupresoras que lo definen como un niño de riesgo para enfermedad invasiva por neumococo; referidos desde los diversos servicios de especialidades médicas y quirúrgicas del mismo hospital y de otros centros de salud nacionales; en el período 2007-2008.

Antecedentes:

En nuestro país no hay antecedentes de estudios de seroconversión ante la vacuna PCV7 en grupos de alto riesgo.

Varios estudios han demostrado que las vacunas neumocócicas conjugadas disminuyen la colonización nasofaríngea por cepas neumocócicas en general y por cepas resistentes a la penicilina y a otros antibióticos. En algunos casos se ha observado la sustitución en la nasofaringe de cepas neumocócicas vacunales por cepas no incluidas en la vacuna, pero no se encuentran en la literatura nacional de Venezuela estudios al respecto en población de alto riesgo⁽⁴⁾.

En la respuesta inmunológica a la vacuna conjugada se ha encontrado aumento de las concentraciones de anticuerpos séricos para cada uno de los serotipos después de la segunda dosis, y después de una tercera dosis las concentraciones de anticuerpos alcanzan o exceden 1mg/ml para todos los serotipos, sin embargo la respuesta inmunológica humoral no es uniforme para todos los serotipos incluidos en la vacuna. Los títulos de anticuerpos ante la mayoría de los serotipos declinan con el tiempo por lo que se justifica la aplicación de una dosis de refuerzo. Las concentraciones de anticuerpos después de una dosis de refuerzo varían entre 3 y 9 mg/ml⁽⁵⁾.

En un estudio realizado por A. Balloch, PV Licciardi, A. Leachb, A. Nurkkac. M.L.K. Tang, realizado en Agosto 2009 en Australia sobre los resultados de una comparación entre los laboratorios de la medición de IgG neumocócicas serotipo- específicas y parámetros críticos que afectan el rendimiento del ensayo, concluyó que la cuantificación de IgG específica a los polisacáridos (serotipos) de *Streptococcus pneumoniae* es la base para evaluar la eficacia de la vacuna. Diferentes técnicas de inmunoabsorción enzimática (ELISA) son los métodos utilizados a nivel internacional, lo que hace difícil las

comparaciones entre laboratorios. Se realizó una comparación entre dos laboratorios internacionales de realizar pruebas ELISA IgG específica de serotipo utilizando un panel de muestras de suero bien caracterizados: el Murdoch Childrens Research Institute neumocócica Laboratorio (Melbourne, Australia) y el Laboratorio de Inmunología de la Vacuna, National Public Health Institute (Helsinki, Finlandia). Si bien se encontró una buena concordancia para la comparación entre laboratorios para la mayoría de los serotipos, las diferencias en la metodología de ELISA IgG específica sigue siendo un método fiable, preciso y proporciona resultados consistentes entre los laboratorios internacionales ⁽⁶⁾; esta metodología ELISA IgG fue la utilizada en nuestro estudio para determinar la inmunogenicidad de la vacuna conjugada en pacientes de alto riesgo.

Marco teórico

El *Streptococcus Pneumoniae* es una bacteria capsulada identificada por Louis Pasteur en 1881. Al entrar en contacto con el hombre produce desde una colonización nasofaríngea hasta cuadros invasores, la propagación a zonas anatómicas habitualmente estériles a través del torrente sanguíneo se denomina enfermedad invasiva, de las cuales las más frecuentes y graves son la bacteriemia, sépsis, meningitis y neumonía bacteriémica, sobre todo en niños menores de 5 años; otras manifestaciones menos comunes son celulitis, artritis, osteomielitis, peritonitis, endocarditis y pericarditis. La edad promedio de la primera adquisición es de 6 meses y las máximas tasa de portador se encuentran en las edades preescolares ⁽⁶⁾.

Los neumococos son ubicuos y forman parte de la flora nasofaríngea normal de las personas sanas; se ha estimado que entre el 30 y el 62 % en niños menores de 2 años, el 30-

35 % en niños entre 6 y 11 años y el 18-19 % en adultos sanos son portadores de neumococo en la nasofaringe. El porcentaje se incrementa de forma significativa en escuelas y orfanatos (27-58%), campamentos militares (50 %) y en personas con enfermedades crónicas ⁽⁶⁾.

La transmisión es interpersonal, presumiblemente por contacto con gotitas respiratorias. Alrededor del 15 % de los niños pequeños que adquieren un nuevo serotipo neumocócico en la nasofaringe presenta enfermedad por ejemplo otitis media. Las mayores tasas de infección corresponden a lactantes, niños pequeños, ancianos, estas infecciones aumentan sus incidencias y gravedad en pacientes con alguna alteración del sistema inmunológico ⁽⁷⁾.

La enfermedad neumocócica constituye una de las 10 primeras causas de muerte en los países desarrollados. La infección neumocócica es la causa de 40.000 muertes anuales en los Estados Unidos, cifra superior a la de cualquier otra enfermedad prevenible con vacunas. Se estima que el 15 al 30 % de todas las neumonías son debidas a neumococo siendo el agente etiológico más frecuente de las neumonías de origen comunitario.

En los Estados Unidos los serotipos 4, 6B, 14, 18C, 19F y 23F, provoca la mayoría de las infecciones invasoras de la infancia y las cepas resistentes a la penicilina 6B, 9V, 14, 19A, 19F y 23F ⁽⁷⁾.

Los antígenos bacterianos polisacáridos, incluyendo aquellos presentes en la cápsula del pneumococo son antígenos T- independientes. Los antígenos T-independientes estimulan los linfocitos B maduros, pero no a los linfocitos T; dado que los recién nacidos y los niños pequeños, responden pobremente a los antígenos T-independientes, las vacunas polisacáridas son poco útiles en este grupo de edad ⁽⁷⁾. La conjugación de polisacáridos con proteínas cambia la naturaleza de la respuesta antipolisacárida convirtiéndola en T-

dependiente este complejo antigénico estimula una respuesta mediada por células T colaboradoras, que lleva respuesta primaria importante en recién nacidos, así como una potente memoria inmunológica cuando se produce la reexposición al antígeno ⁽⁸⁾.

Se ha estimado que la cobertura vacunal en niños de 2 a 23 meses es del 83 y 85.4% para enfermedad invasora y otitis media aguda y del 63 y 61 % en niños de 24 y 59 meses. La unión del polisacárido capsular y la proteína transportadora de la VCN7 transforma la respuesta inmunitaria frente al antígeno vacunal de T- independiente propia de una vacuna no conjugada, y una respuesta T- independiente. Esta desencadena la producción de una concentración adecuada de anticuerpos específicos protectores por parte de los linfocitos B, en niños a partir de los 2 meses de edad ⁽⁸⁾. La vacuna 7 valente; demostró en los estudios clínicos ser inmunogénica después de tres dosis de la inmunización básica a los 2, 4 y 6 meses de edad, el 92-100% de los niños presentaron concentraciones $\geq 0.15\mu\text{g/ml}$ (nivel establecido como protector) y el 67-100% concentraciones $\geq 1\mu\text{g/ml}$. La buena inmunogenicidad de la vacuna VCN7 se correlaciona con su excelente eficacia. En los estudios clínicos esta vacuna demostró ser altamente eficaz (97.4%) en la prevención de la enfermedad neumocócica invasora causada por los serotipos vacunales, lo que permitió su comercialización en Estados Unidos de Norte América en el año 2000. Además, la vacuna demostró tener un efecto de inmunidad de rebaño muy importante reduciendo la incidencia de la enfermedad neumocócica invasora en poblaciones de personas que no recibieron directamente la vacuna, incluyendo niños >5 años y adultos de todas las edades. Se ha estimado que por cada niño vacunado hay 2.1 personas más que se benefician por este efecto de rebaño atribuible a la disminución en la colonización a nivel de la oro faringe. Otro de los grandes beneficios de la vacuna VCN7 ha sido la reducción en la resistencia a la penicilina, la cual ha disminuido a un 5% para el año 2003. ⁽⁸⁾

En Venezuela, existen estimaciones del estado de portador de *S. pneumoniae* realizadas en población “criolla” en Maracaibo y Mérida donde se obtuvieron cifras entre 12 y 24% de portadores. Así mismo existen estudios realizados en población “indígena” (etnia Warao) donde el porcentaje de portador se incrementa al 42,7% ⁽⁹⁾

En un estudio experimental, transversal en 110 niños de 2-59 meses de edad con condiciones de alto riesgo según el CDC, realizado en Venezuela en Noviembre 2009 por Dra. Berenice del Nogal, Dra. Cortez Rossana y Dra. Fuentes Mariana, sobre la vacuna neumocócica heptavalente en niños con alto riesgo, portadores de *Streptococcus pneumoniae*; resultó que la tasa de portador de neumococo fue de 20%. Los serotipos aislados 6, 19A, 14, 18, 3, 4, 7F, 11A, 12F, 19F y 18C están en correspondencia en un 65% con los serotipos responsables de enfermedad invasiva según el estudio SIREVA. Con las sucesivas dosis de PCV7 los serotipos vacunales se negativizaron, con menor respuesta para grupo 6 y serotipo 14. Los serotipos no vacunales aumentaron, particularmente el serotipo multirresistente a drogas 19A. Se asoció el aislamiento de neumococo con factores de riesgo para infección neumocócica conocidos como bajo estrato socioeconómico, fumador pasivo y no recibimiento de lactancia materna. El uso de antibióticos se asoció a menor tasa de portador ⁽¹⁰⁾.

Se concluyó que la VCN7 modifica el estado de portador por disminución de serotipos vacunales, con menor respuesta para el grupo 6 y serotipo 14. La cobertura vacunal de VCN7 de un 69%, aumenta con la vacuna 13 valente a 81% debido a la alta prevalencia del serotipo 19A ⁽¹⁰⁾.

La patogenicidad del *Streptococcus pneumoniae* está relacionada primariamente con la propiedad antifagocitaria del polisacárido capsular y la protección esta correlacionada a

la presencia de anticuerpos opsonicos. La cápsula del neumococo es el determinante fundamental de la patogenicidad, demostrándose en estudios experimentales que sólo las cepas capsuladas son patógenas ya que poseen un efecto antifagocitario. La cápsula está compuesta por polisacáridos, que son los responsables de la inmunidad específica para cada serotipo. Se han identificado por lo menos 90 serotipos de neumococo, clasificados en 46 grupos según sus características antigénicas, los más similares designados por un mismo número seguido de una letra diferente ⁽¹¹⁾.

La patogénesis de la enfermedad neumocócica se divide en tres fases: la adhesión, la colonización y la diseminación. La primera consiste en la interacción entre las moléculas específicas de adhesión presentes en la superficie externa del neumococo con los receptores proteicos de las células epiteliales de la nasofaringe, luego se produce crecimiento y multiplicación bacteriana que provoca la colonización y posterior diseminación a zonas contiguas, como la trompa de Eustaquio, los senos paranasales o las vías respiratorias y los pulmones, o bien a la sangre para diseminarse a otros sitios estériles como las meninges y las articulaciones ⁽¹²⁾.

La respuesta inmune local del huésped juega un papel importante en la regulación del tráfico de los patógenos en la vía respiratoria superior. La adherencia del neumococo esta mediada tanto por las moléculas en la superficie bacteriana (tales como antígeno A de superficie del neumococo, proteína de unión a la colina y adhesina A de superficie del neumococo) las cuales forman un puente con los receptores en las células epiteliales. Se ha sugerido que una respuesta inmune local agresiva podría prevenir la colonización y limitar su duración. La colonización nasofaríngea estimula la producción local de IgA y sistémica de IgG a las moléculas de adhesión del neumococo ⁽¹³⁾.

Se considera que la inmunidad natural mediada por linfocitos T CD4+ contra los antígenos del neumococo puede modular el estado de portador nasofaríngeo asociado con producción de citoquinas de tipo Th1. Incluso los esfuerzos para la obtención de nuevas vacunas se basan en encontrar proteínas antigénicas como la neumolisina y la proteína A de unión a la colina que tienen potencial de inducir protección a todas las edades y contra la mayoría de los serotipos de neumococo⁽¹⁴⁾.

En un trabajo realizado en 1932, se detectó que los anticuerpos antineumococico presentes al nacer, de procedencia materna, desaparecían transcurridas solo las 5 primeras semanas de vida aunque a partir de 15 meses empezaban a aumentar nuevamente, había que esperar a los dos años para comprobar títulos significativos, volviendo a observarse un descenso muy importante a partir de los 60 años, estos datos coinciden con la frecuencia de enfermedades invasoras producidas por esa bacteria. Así la incidencia es muy elevada entre los 7 y 24 meses de vida, a partir de cuya edad las tasas se reducen para incrementarse de nuevo a partir de los 65 años de vida⁽¹⁴⁾.

Operacionalización de variables:

Variable	Tipo	Escala	Indicado
Inmunogenicidad	Nominal	Modificado No modificado	Respuesta inmunológica a la Vacuna VCN7
Número de Dosis	Cuantitativa	De Razón	Aplicación de vacuna VCN7
Edad	Cuantitativa	De Razón	Edad en Años
Diagnóstico	Cualitativa	Nominal	Diagnóstico
Peso	Cuantitativa	De Razón	Peso en Kilos
Talla	Cuantitativa	De Razón	Altura en Centímetros
Evolución Clínica	Cualitativa	Nominal	Presencia de Enfermedad Neumocócica

Objetivo general:

Evaluar la respuesta clínica e inmunológica a la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente en niños con alto riesgo para enfermedad invasiva por neumococo.

Objetivos específicos:

- 1.- Determinar la inmunogenicidad a la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente en niños con alto riesgo para la enfermedad invasiva por neumococo.
- 2.- Determinar el estado de salud en niños con alto riesgo para enfermedad invasiva por neumococo después de recibir la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente.

Hipótesis

La administración de la Vacuna Conjugada Antineumocócica Heptavalente en niños de alto riesgo desencadena una concentración de anticuerpos protectores para cada serotipo

MÉTODOS

Tipo de estudio

Se trata de un estudio clínico inmunológico, experimental, prospectivo, longitudinal, abierto y controlado

Población y muestra

La población está conformada por todos los niños que acuden al servicio de Pediatría Integral “Niños Sano” del Hospital “J.M. de Los Ríos”, referidos desde los diversos Servicios de Especialidades Médicas y Quirúrgicas del mismo hospital y otros centros de salud nacionales en el período 2007-2008, con condiciones inmunosupresoras que lo definen como un niño de riesgo para enfermedad invasiva por neumococo.

El grupo de estudio está conformado por 100 niños; con edades comprendidas entre 2 y 59 meses y al menos una de las siguientes condiciones inmunosupresoras que lo definen como un niño de alto riesgo para enfermedad invasiva por neumococo: infección por VIH, anemia drepanocítica, asplenia, inmunodeficiencia congénita, cardiopatía crónica (cianógena o con predisposición a insuficiencia cardiaca), neumopatía crónica (incluye asma con altas dosis de esteroides), fugas de líquido cefalorraquídeo, insuficiencia renal crónica (incluye neoplasias malignas, leucemias, linfomas, trasplantes de Órganos sólidos) y Diabetes Mellitus.

Se excluyen a los pacientes con infecciones agudas que reciben tratamiento antibiótico en un lapso menor a 7 días entre el inicio de la medicación y la toma de la muestra, excepto los pacientes que reciben tratamiento profiláctico.

Del grupo de estudio de 100 pacientes estudiados se seleccionó al grupo de los niños portadores de VIH y Anemia de células falciformes que fueron 34; a los cuales se

les realizó la medición de anticuerpos en muestras de suero contra los siete serotipos de neumococo presentes en la vacuna VCN7 (4,9V, 14, 19F, 23F, 6B y 18 C).

Procedimientos

Se obtiene información del sujeto a través de una entrevista, donde se recolectan datos de filiación, lo referente a su patología de base, tratamientos que recibe, estado de vacunación previo tanto para neumococo, vacuna VCN7 y vacuna polisacárida 23 valente (VNP23), como para *H. influenzae*, condiciones asociadas que pudieran ser factores de riesgo para mayor colonización por *S. pneumoniae*, y en entrevistas sucesivas se recogerá en ese mismo formato información acerca de efectos adversos presentados posterior a la vacunación (anexo III). Aplicación de la vacuna VCN7 (Pevnar®, Wyeth) al grupo de estudio, la cual contiene 2 µg de polisacárido de los serotipos 4, 9V, 14, 18C, 19F y 23F, así como 4 µg del serotipo 6B, acoplados a la proteína CRM197.

Los sujetos recibirán las dosis de acuerdo al esquema de vacunación correspondiente al grupo etario bajo el cual ingresen al protocolo y las dosis previas de vacuna VCN7 recibidas (anexo IV).

Con la aplicación de cada dosis de vacuna se toman muestras de exudado nasofaríngeo, y suero, así como también 8 semanas posterior a la aplicación de la última dosis las muestras de exudado nasofaríngeo son obtenidas con hisopo flexible (Copan Italia, Brescia, Italy), el cual se introduce suavemente por fosas nasales hasta la pared posterior de la faringe, es retirado y conservado en medio STGG, se conservan las muestras a menos 20°C hasta ser transportadas al Laboratorio del Instituto de Biomedicina, donde se siembran en placas de agar Columbia con 5% de sangre humana, placas de agar Columbia con 5% de sangre humana + 5ug/l Gentamicina (para aislamiento de neumococo), agar chocolate (para

aislamiento de *H. influenzae*) y agar de manitol salt (para aislamiento de *S. aureus*). Las placas son incubadas en aire con 5% de CO₂ a 35 °C durante la noche.

La identificación de microorganismos se realiza por métodos microbiológicos convencionales (Murray et al, 2003) y las pruebas de susceptibilidad aeróbica a drogas por discos y caldos microdiluidos, con concentración inhibitoria mínima de acuerdo al Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2005.

Para determinar inmunogenicidad de la vacuna, se utilizan muestras de suero. Las muestras de suero se recolectan para medición de anticuerpos IgG contra los siete serotipos de neumococo presentes en la vacuna VCN7, por método de ELISA.

La serotipificación de los neumococos aislados se hizo mediante PCR múltiple, pudiéndose identificar todos aquellos serotipos vacunales, sin distinción entre los distintos serotipos dentro del grupo 6. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Tuberculosis en el Instituto de Biomedicina de Caracas.

Para la medición de anticuerpos contra los siete serotipos de neumococo presentes en la vacuna VCN7 (4,9V, 14, 19F, 23F, 6B y 18 C), en muestras de suero de los 34 niños VHI y drepanocíticos, se utilizó el método de ELISA. Dichas muestras fueron procesadas en el Laboratorio De Enfermedades Infecciosas Pediátricas de la Universidad de Nijmegen en Holanda.

Se evaluó el estado clínico de estos pacientes posterior a la inmunización a través de un instrumento en el que se recolectó mediante la anamnesis a los padres si el paciente había tenido ingreso hospitalario, presencia de alguna enfermedad neumocócica No invasiva: otitis Media Aguda, Sinusitis, Neumonía no bacteriémica, conjuntivitis ó Enfermedad Neumococcica invasiva (Meningitis, Empiema pleural, Sépsis, Peritonitis

primaria, abscesos en articulaciones), de ser positivo este interrogatorio, se confirmó con la revisión de la historia clínica; así como el examen físico actual del paciente. (Anexo I)

Tratamiento estadístico adecuado

Se calculó la media y la desviación estándar de las variables continuas; en el caso de las variables nominales se calculó sus frecuencias y porcentajes.

Para medir el cambio de condición inmunológica antes y después de la vacunación se aplicó la prueba de Mc Nemar; los contrastes de tipo independientes se basaron en la prueba X^2 de Pearson.

Los contrastes antes-después de la concentración de anticuerpos se realizaron utilizando la prueba no paramétrica W de Wilcoxon.

Se consideró un valor significativo de contraste si $p < 0,05$. Los datos fueron analizados con JMP-SAS versión 9.

RESULTADOS

Del análisis estadístico del grupo de estudio de 34 niños de Alto Riesgo; portadores de VIH y Anemia de células falciformes, obtuvimos que: la edad media de los pacientes fue 31 ± 18 años (rango: 2 – 70 meses); con un leve predominio en el sexo masculino 19 (55,9%) sobre el sexo femenino 15 (44,1%) ; más de la mitad de los niños incluidos en el estudio tenían diagnóstico de anemia drepanocítica, 22 (64,7%) el resto correspondió a los VIH, 12 (35,3%), el tiempo de ingreso hospitalario después de la administración de la última dosis de la vacuna antineumocócica heptavalente fue 23 ± 18 meses y los hospitalizados promedio fueron 7 ± 5 días (Tabla 1 y gráfico 1).

Con respecto a el estado portador nasofaríngeo para los pacientes VIH antes de la inmunización el 33,3 % eran portadores nasofaríngeos y posterior a la misma aumento a 36,4%; sin embargo evidenciamos que en los pacientes drepanocíticos disminuyó el estado portador posterior a la administración de la vacuna conjugada antineumocócica (VCN7) de un 22,2% a 15% (gráfico 5)

De los 12 pacientes HIV, 8 (58,3%) fueron portadores negativos de neumococo antes de la inmunización con VCN7, y solo 1 (8,3%) caso que era portador negativo antes de la vacuna después adquirió el serotipo 6, mientras que en 1(8,3%) caso se erradicó el estado portador para el serotipo 14, sin embargo en 3 (24,9%) casos persistió el mismo serotipo 12F , 19a, y el serotipo 3 ; en 2 (16,6%) casos que no eran portadores nasofaríngeos adquirieron el serotipo 4F y NT (Tabla 3.1 y gráfico 6)

La mayoría de los pacientes drepanocíticos 14 (63,6%) eran portadores nasofaríngeos negativos antes de la inmunización PVC 7 y posterior a la misma este porcentaje aumento a 77,3% , los portadores de los serotipos 3 (4,5%) 6,(4,5%) 19^a (4,5%) y se mantuvieron igual , mientras que el paciente 1 (4,5%) con serotipo 14 se erradicó posterior a la

inmunización con PVC 7 , 4 pacientes (18,2%) eran portadores de serotipos no tipables lo cual disminuyó a 2 pacientes con serotipo no tipable posterior a la vacuna (Tabla 3.2 gráfico 6.2)

La Tabla 4 y gráfico 8 muestra las manifestaciones clínicas más frecuentes: en los pacientes con HIV, se presentó fiebre 3 (25,0 %), mientras que en los drepanocíticos 4 (18,2%) dolor 4 drepanocíticos (18,2%), tos y palidez, en igual proporción 2 (9,1%) para drepanocíticos, dificultad respiratoria, aumento de volumen en pierna derecha, dolor abdominal, lesiones de piel, secuestro esplénico, vómito y diarrea, en igual proporción, para los HIV 1 (8,3%). Los que presentaron enfermedad neumococcica y ameritaron ingreso hospitalario los días hospitalización promedio fueron 7 ± 5 días. Del grupo de pacientes drepanocíticos 4 presentaron neumonía 1 de ellas fue nosocomial. De los pacientes con VIH ingresados posterior a la inmunización con PVC 7 solo 1 presento enfermedad neumocócica.

Con respecto a los diagnósticos nutricionales la mayoría fue nutrición y talla normal, tanto para HIV 9 (75%) como para drepanocíticos 13 (59.1%), desnutrición en zona crítica en igual proporción 1 HIV (8,3%) y 1 drepanocítico (4,5%) , el resto fue desnutrición en alguna de las siguientes categorías: grave, leve con talla normal, leve con talla normal baja, subclínica, subclínica con talla normal 1 caso HIV (8,3%); no se reportaron 5 (22,7%) diagnósticos nutricionales en pacientes drepanocíticos (Tabla 5 gráfico 9)

Con respecto a el cambio en la concentración de anticuerpos de acuerdo al serotipo de neumococo antes y después de la vacuna VCN7, evidenciamos que en el grupo VIH se incremento la concentración de anticuerpos en los serotipos: 18C, 19F, 23F, 14 y 9V, el resto (serotipos 4 y 6B) se incrementó aunque no fue estadísticamente significativo; en el grupo de pacientes con anemia drepanocítica, hubo incrementos de los serotipos 18C, 4,

6B, 23F, 14 y 9V (todos significativos), a excepción del serotipo 19F que aunque incrementó su concentración, no fue un cambio significativo

La respuesta de protección después de la vacunación todos los pacientes tuvieron condición de protegidos, esta respuesta se obtuvo como el escalamiento de la concentración de anticuerpos, considerando respuesta protectora si dicha concentración era superior a 0,35 microgramos/mL por técnica de Elisa 22 – F inhibición (Tabla 6 gráficos 10 al 16)

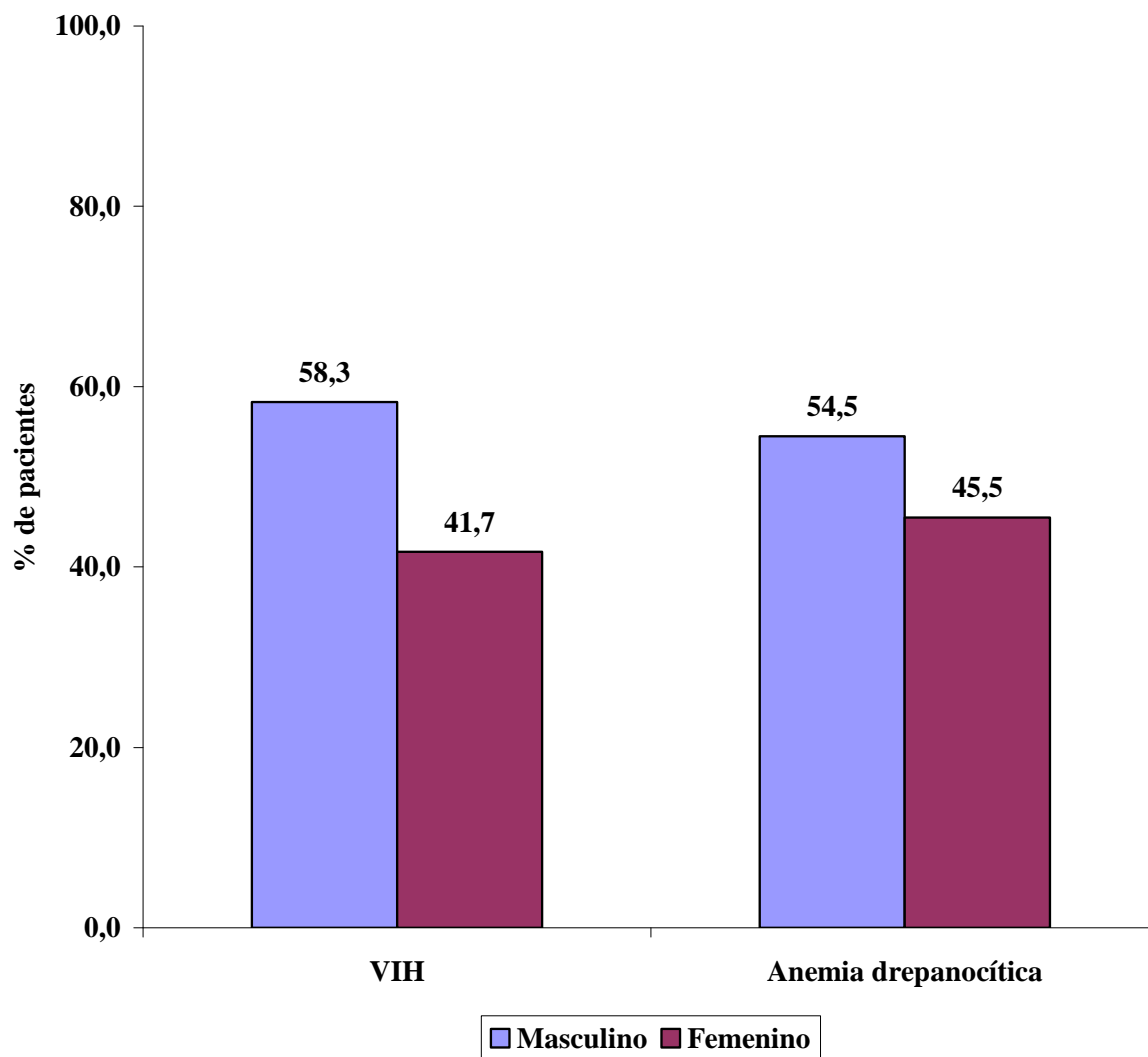
Tabla 1.

Características de los pacientes según patología.

Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN 7 en pacientes con alto riesgo de enfermedad invasiva Hospital J. M. de los Ríos 2007 - 2008

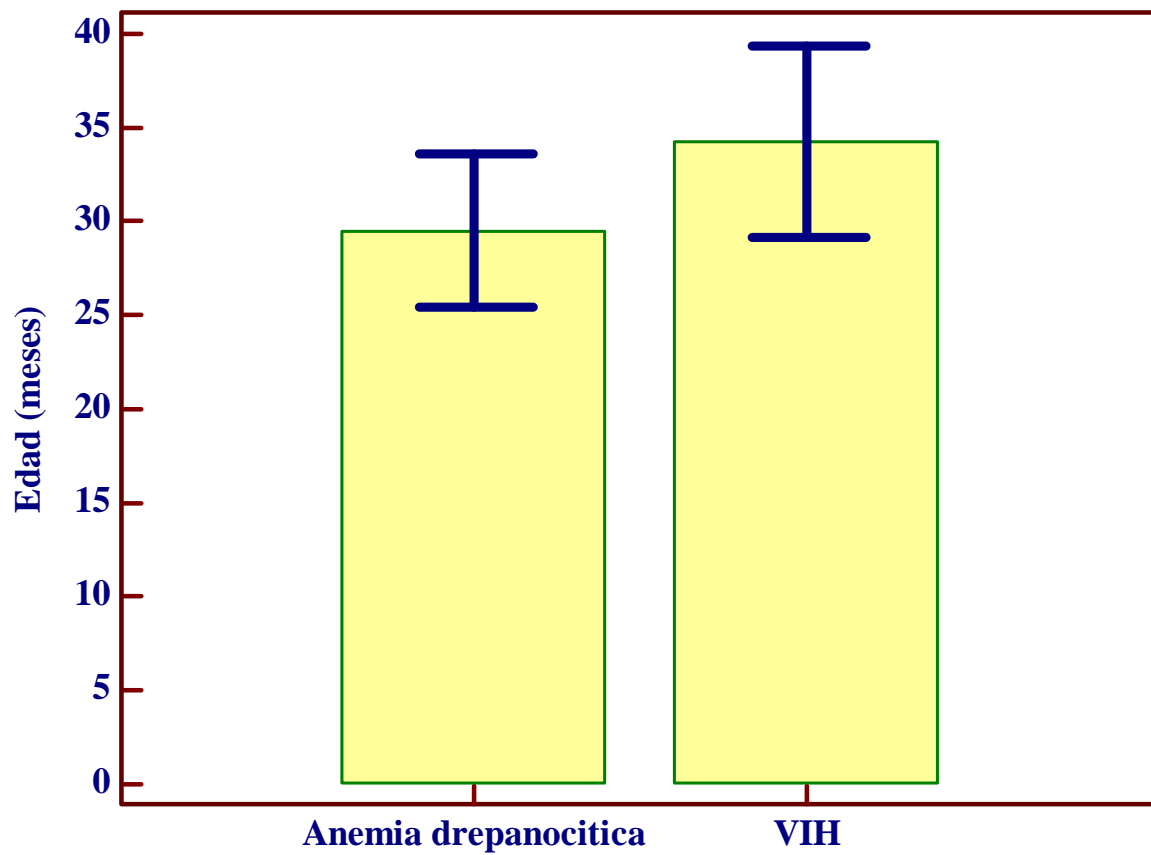
Variables	VIH	Anemia drepanocítica	P
N	12	22	-
Edad (meses)	34 ± 18	30 ± 19	0,484
Hospitalización después de la última dosis de PVC7(meses)	24 ± 16	22 ± 18	0,808
Hospitalización (días)	5,6 ± 3,8	7,8 ± 5,4	0,442
Sexo			0,832
Masculino	7 (58,3%)	12 (54,5%)	
Femenino	5 (41,7%)	10 (45,5%)	

Gráfico 1.
Distribución de los pacientes según sexo y diagnósticos



Fuente: Tabla 1.

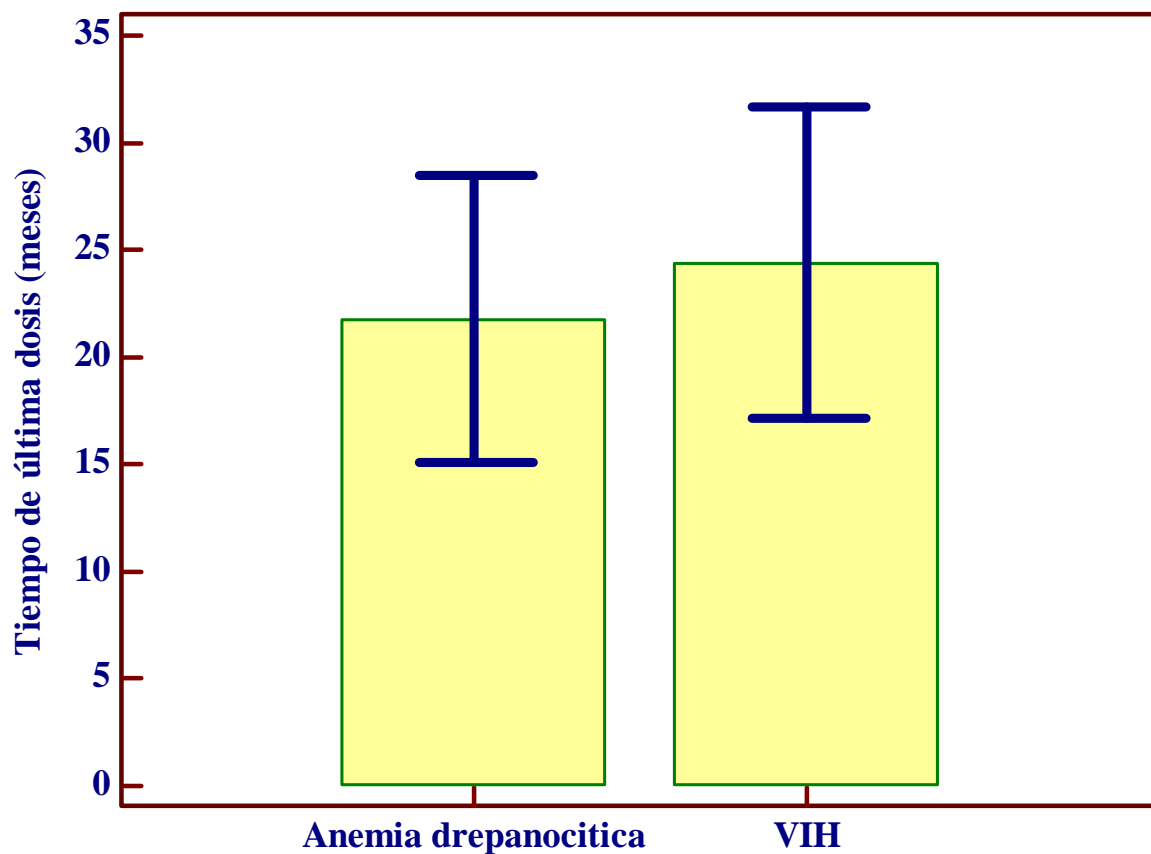
Gráfico 2.
Comparación de la edad según patologías



Fuente: Tabla 1.

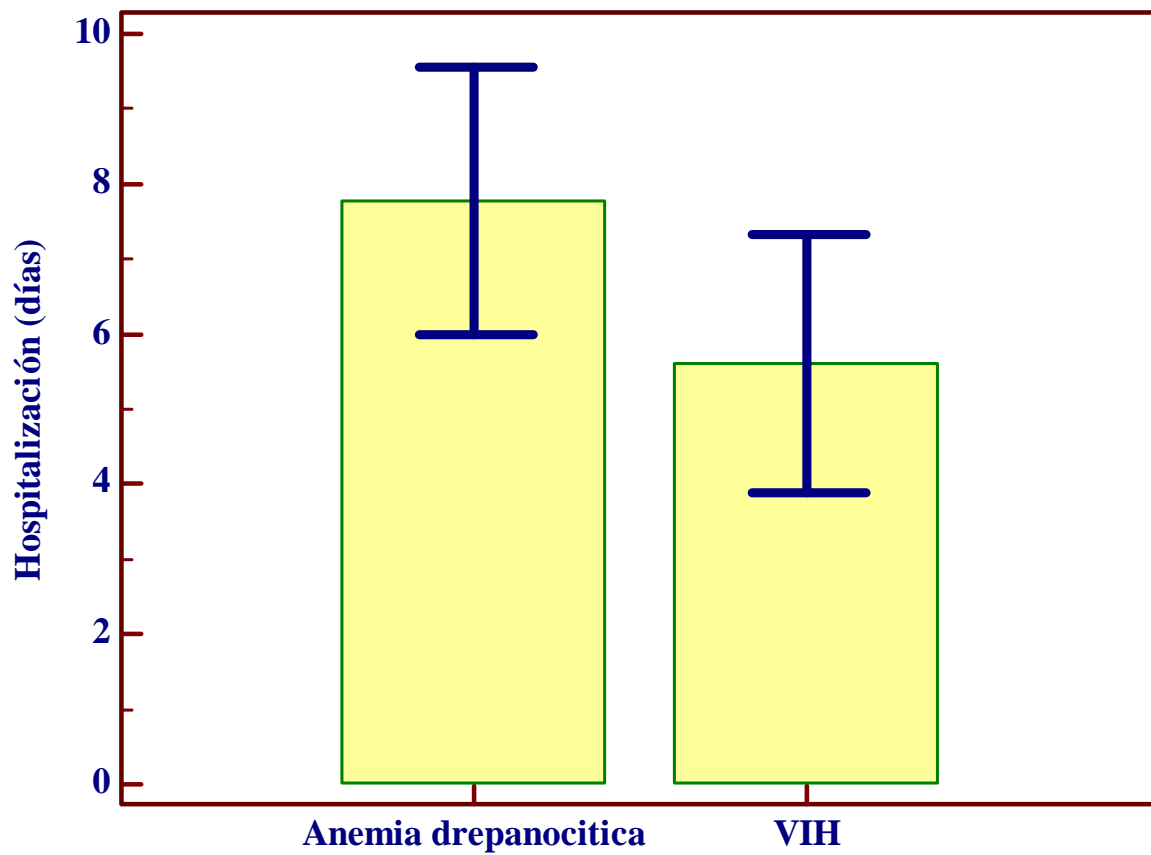
Gráfico 3.

Comparación del tiempo de ingreso hospitalario después de la administración de la última dosis de la vacuna antineumocócica heptavalente según patologías



Fuente: Tabla 1.

Gráfico 4.
Comparación del tiempo hospitalización durante ingreso según patologías.



Fuente: Tabla 1.

Tabla 2.
Cambios en el estado portador nasofaríngeo de neumococo antes y después de la
vacunación.

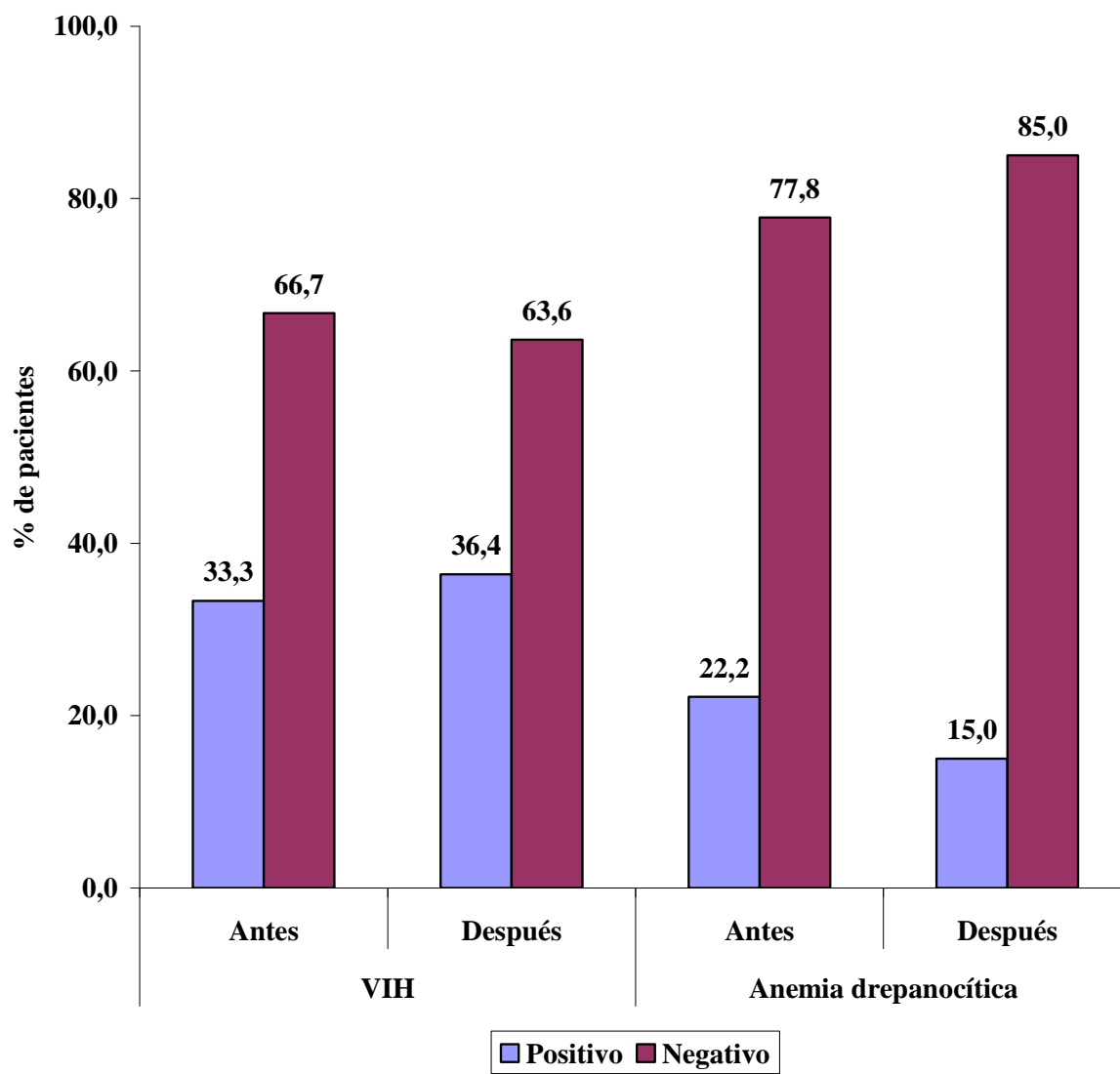
Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN7 en pacientes con alto
Riesgo de enfermedad invasiva Hospital J. M. de los Ríos 2007 - 2008

		Antes	
Después		Positivo	Negativo
VIH	Positivo	3	1
	Negativo	0	7
Anemia drepanocítica	Positivo	2	1
	Negativo	1	12

VIH: p de Mc Nemar = 1,000

Anemia drepanocítica: p de Mc Nemar = 1,000

Gráfico 5.
Cambios del estado portador nasofaríngeo de neumococo antes y después de la
inmunización con VCN 7



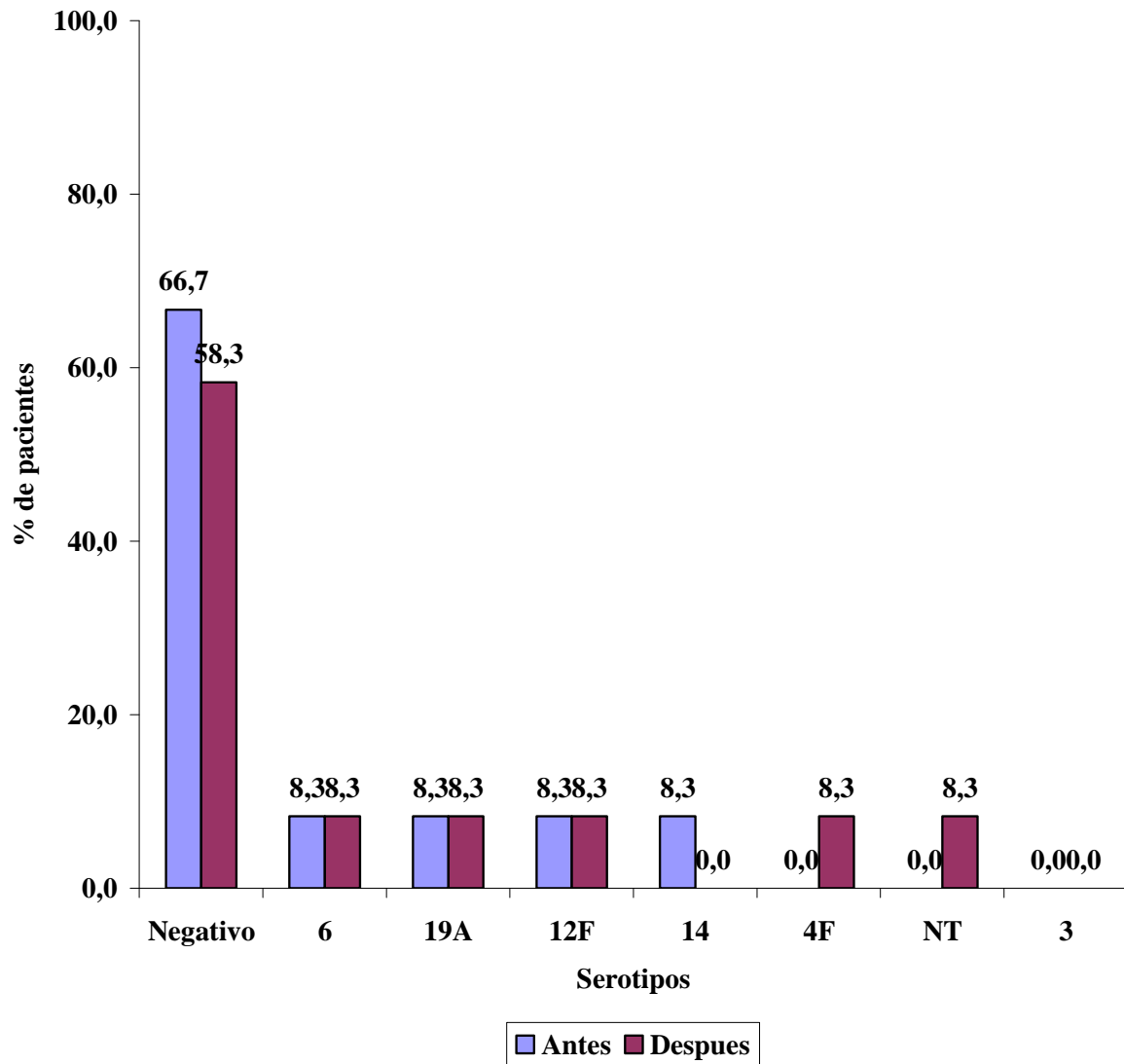
Fuente: Tabla 2.

Tabla 3.1
 Variación de los serotipos de neumococo en el estado portador nasofaríngeo antes y después de la inmunización con VCN7 en pacientes VIH.
 Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna PVC 7 en pacientes con alto riesgo de enfermedad invasiva Hospital J. M. de los Ríos 2007 - 2008

Serotipos	Antes		Después	
	N	%	n	%
Negativo	8	66,7	7	58,3
6	1	8,3	1	8,3
19 ^a	1	8,3	1	8,3
12F	1	8,3	1	8,3
14	1	8,3	0	0,0
4F	0	0,0	1	8,3
NT	0	0,0	1	8,3
3	0	0,0	0	0,0

Gráfico 6.1

Variación de los serotipos de neumococo en el estado portador nasofaríngeo antes y después de la inmunización con VCN 7 en pacientes VIH.



Fuente: Tabla 3.1

Tabla 3.2

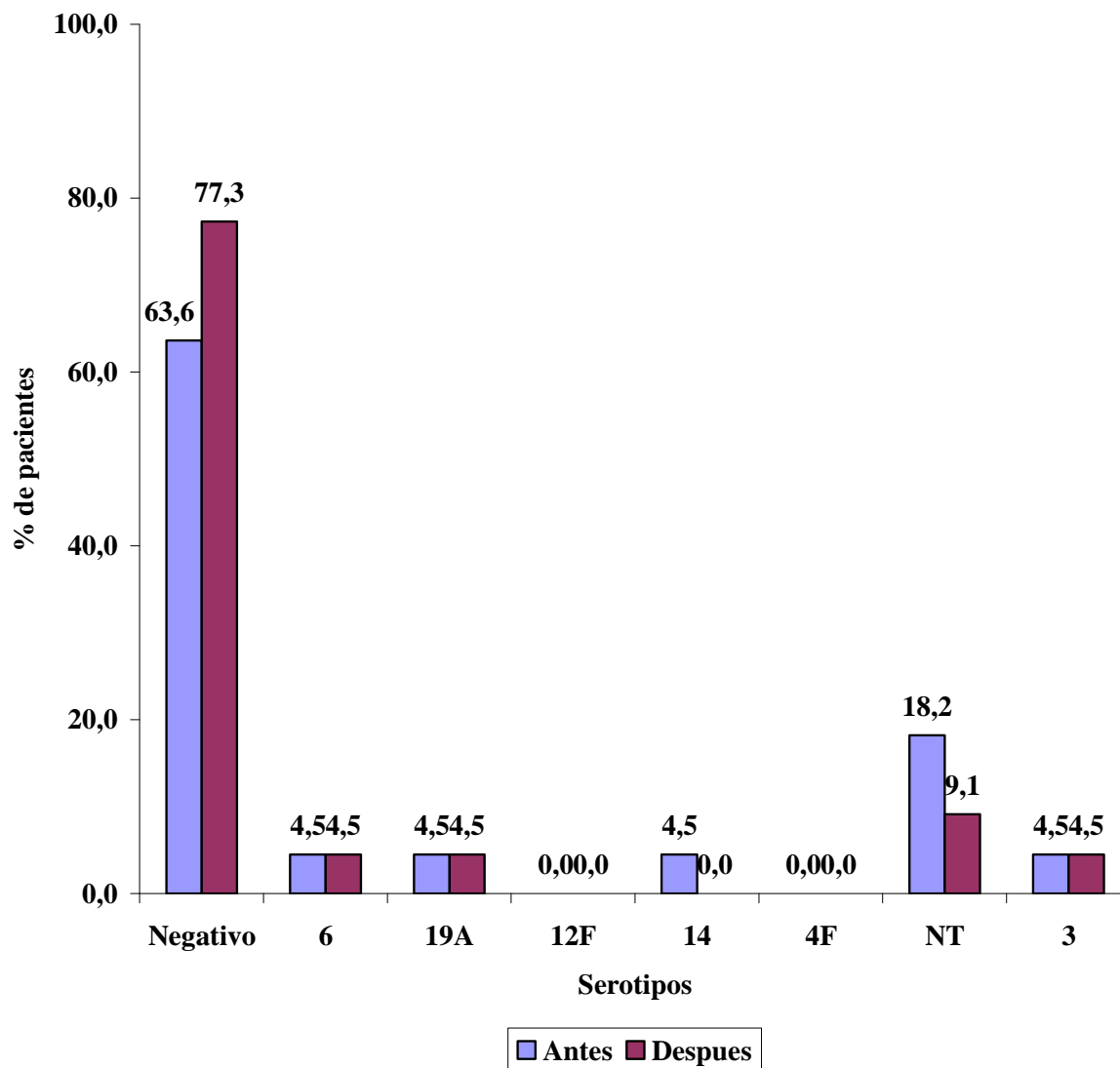
Variación de los serotipos de neumococo en el estado portador nasofaríngeo antes y después de la inmunización con VCN7 en pacientes con anemia drepanocítica.

Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN7 en pacientes con alto riesgo de enfermedad invasiva Hospital J. M. de los Ríos 2007 - 2008

Serotipos	Antes		Después	
	N	%	n	%
Negativo	14	63,6	17	77,3
6	1	4,5	1	4,5
19 ^a	1	4,5	1	4,5
12F	0	0,0	0	0,0
14	1	4,5	0	0,0
4F	0	0,0	0	0,0
NT	4	18,2	2	9,1
3	1	4,5	1	4,5

Gráfico 6.2

Variación de los serotipos de neumococo en el estado portador nasofaríngeo antes y después de la inmunización con VCN7 en pacientes con anemia drepanocítica.

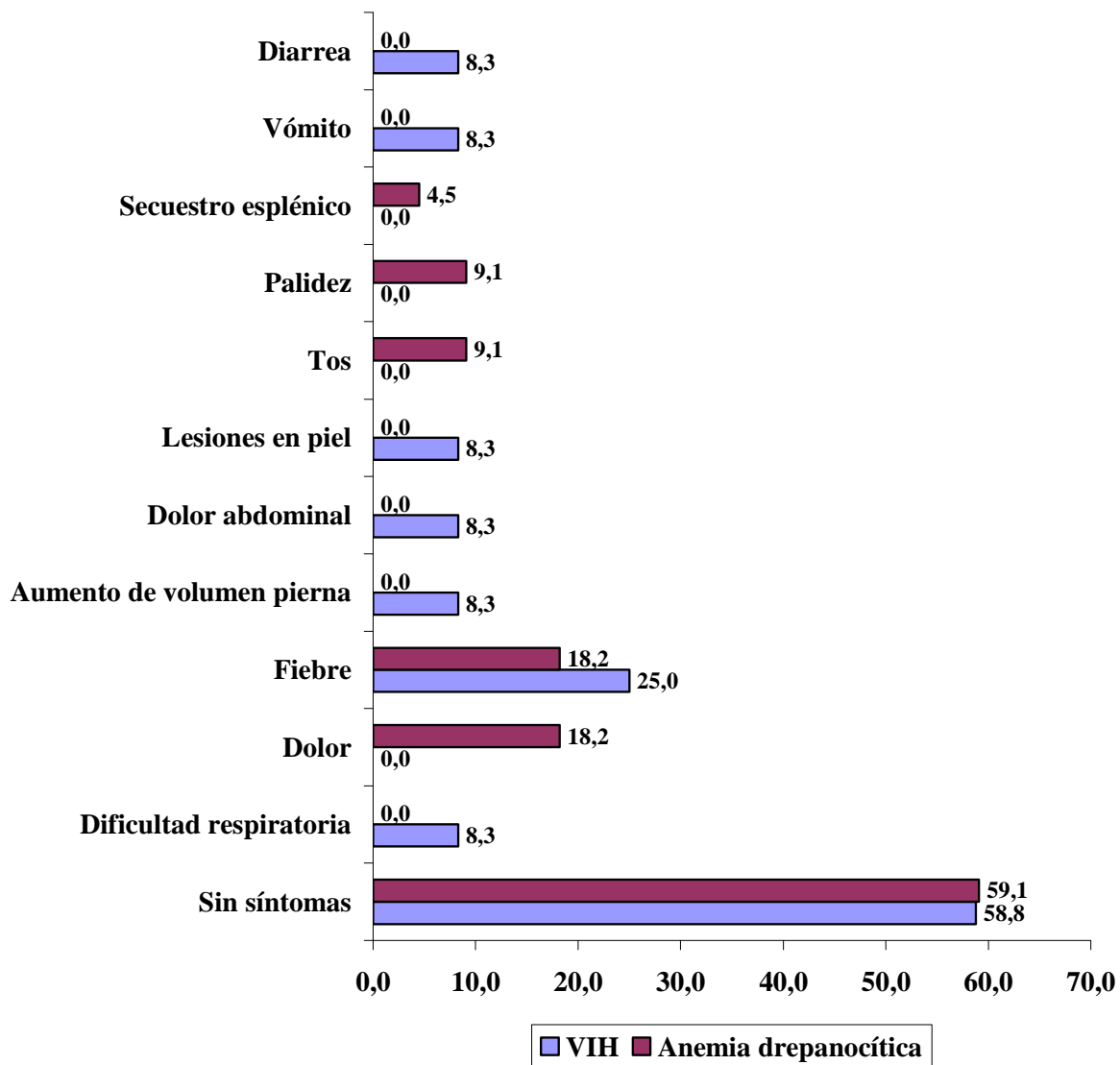


Fuente: Tabla 3.1

Tabla 4.
 Comparación de signos y síntomas según diagnósticos.
 Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN7 en pacientes con alto riesgo
 de enfermedad invasiva
 Hospital J. M. de los Ríos
 2007 - 2008

Síntomas	VIH		Anemia drepanocítica		P
	N	%	N	%	
Sin síntomas	7	58,3	13	59,1	1,000
Dificultad respiratoria	1	8,3	0	0,0	0,755
Dolor	0	0,0	4	18,2	0,310
Fiebre	3	25,0	4	18,2	0,979
Celulitis M.Inf D	1	8,3	0	0,0	0,755
Dolor abdominal	1	8,3	0	0,0	0,755
Lesiones en piel	1	8,3	0	0,0	0,755
Tos	0	0,0	2	9,1	0,754
Palidez	0	0,0	2	9,1	0,754
Secuestro esplénico	0	0,0	1	4,5	1,000
Vómito	1	8,3	0	0,0	0,755
Diarrea	1	8,3	0	0,0	0,755

Gráfico 8.
Comparación de signos y según diagnósticos.



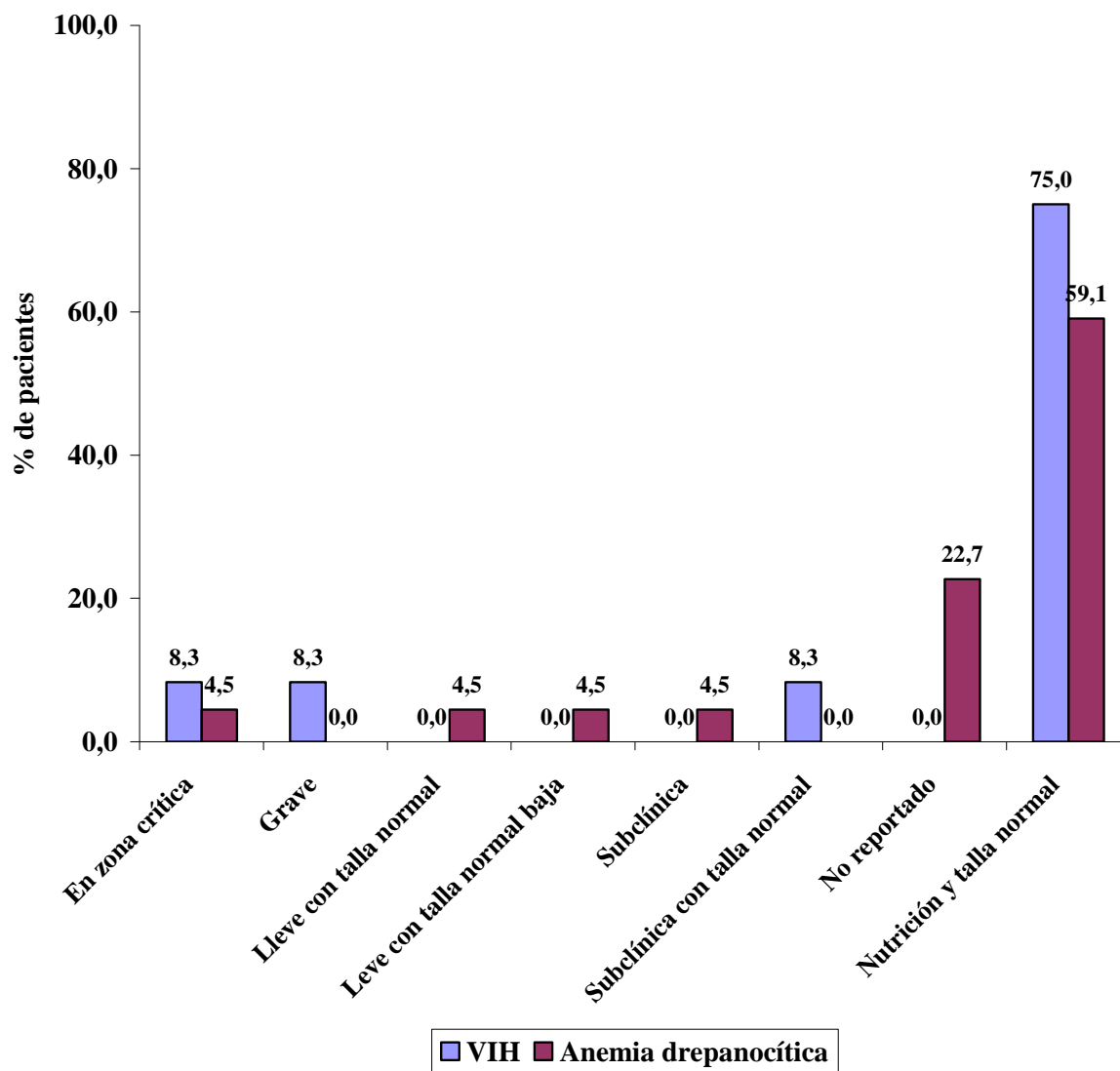
Fuente: Tabla 4.

Tabla 5.
 Comparación de los diagnósticos nutricionales según patologías.
 Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN 7 en pacientes con alto
 riesgo de enfermedad invasiva
 Hospital J. M. de los Ríos
 2007 - 2008

	Diagnósticos			
	VIH		Anemia drepanocítica	
Desnutrición	N	%	n	%
En zona crítica	1	8,3	1	4,5
Grave	1	8,3	0	0,0
Lleve con talla normal	0	0,0	1	4,5
Leve con talla normal baja	0	0,0	1	4,5
Subclínica	0	0,0	1	4,5
Subclínica con talla normal	1	8,3	0	0,0
No reportado	0	0,0	5	22,7
Nutrición y talla normal	9	75,0	13	59,1
Total	12	100,0	22	100,0

$\chi^2 = 8,523$ (p = 0,289)

Gráfico 9.
Comparación de los diagnósticos nutricionales según patologías.



Fuente: Tabla 5.

Tabla 6.

Cambio en la concentración de anticuerpos Ig G específico por serotipo de neumococo antes y después de Inmunización con VCN7.

Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN7 en pacientes con alto riesgo de enfermedad invasiva
Hospital J. M. de los Ríos
2007 - 2008

Serotipo	VIH		Anemia drepanocítica		Valores p (antes-después)	
	Antes	Después	Antes	Después	VIH	AD
18C	0,72 ± 0,14	2,73 ± 0,91	2,13 ± 0,75	5,26 ± 1,00	0,005	0,004
4	1,26 ± 0,37	3,58 ± 1,21	1,05 ± 0,33	5,85 ± 0,92	0,109	0,003
6B	1,43 ± 0,23	3,30 ± 0,91	5,17 ± 2,49	10,45 ± 3,30	0,050	0,016
19F	3,00 ± 0,47	10,28 ± 2,73	6,10 ± 2,15	10,87 ± 2,56	0,005	0,087
23F	1,15 ± 0,37	1,31 ± 0,24	2,64 ± 0,87	9,41 ± 1,98	0,028	0,013
14	3,04 ± 0,65	12,85 ± 3,52	5,77 ± 1,52	21,91 ± 3,54	0,005	0,000
9V	0,98 ± 0,25	5,09 ± 1,42	1,84 ± 0,59	6,58 ± 1,10	0,018	0,001

Comparación de eventos "después de la inmunización" entre grupos (VIH vs anemia drepanocítica) y serotipo

18C: p = 0,120

4: p = 0,421

6B: p = 0,056

19F: p = 0,865

23F: **p = 0,000**

14: p = 0,053

9V: p = 0,359

AD: anemia drepanocítica

Los cambios significativos fueron:

Gráfico 10.
Cambios en la concentración del serotipo 18C.

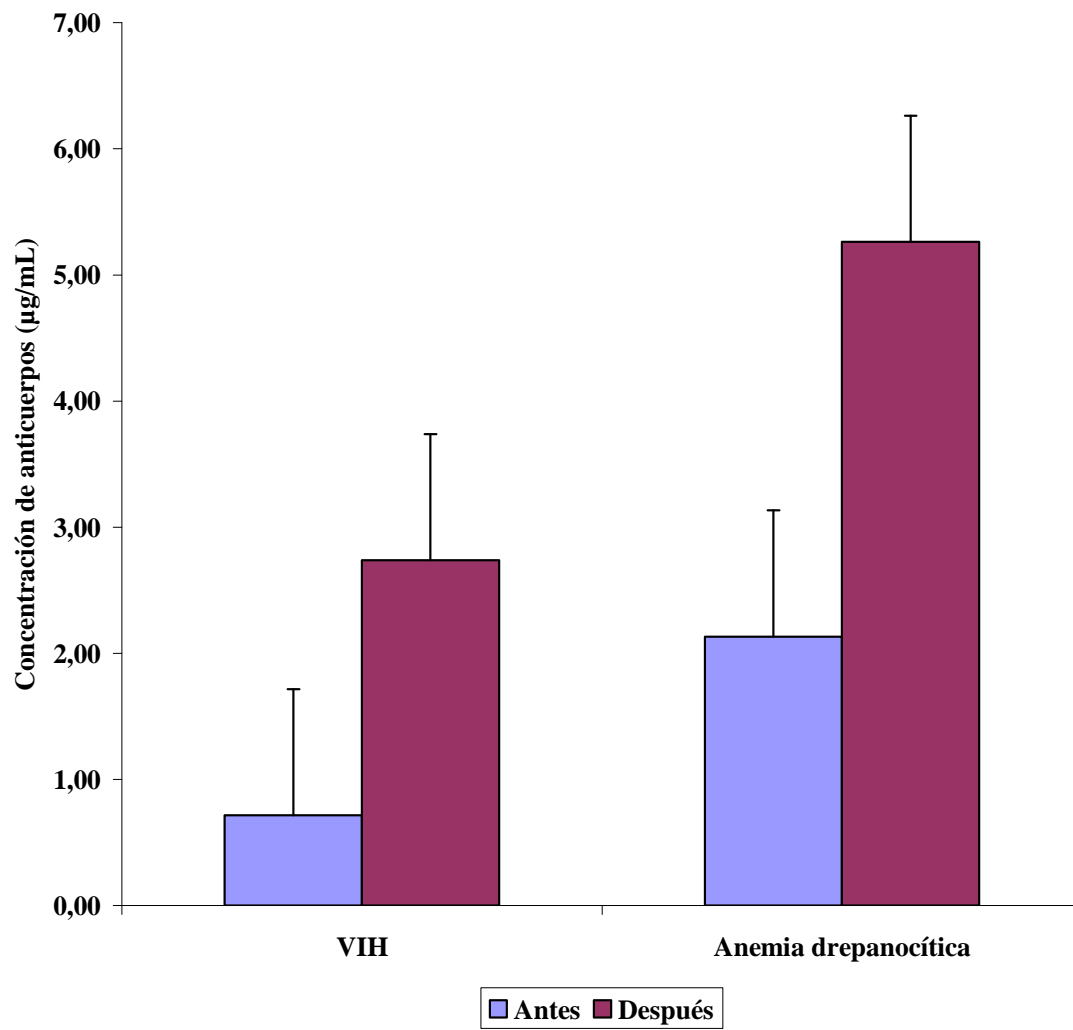


Gráfico 11.
Cambios en la concentración del serotipo 4.

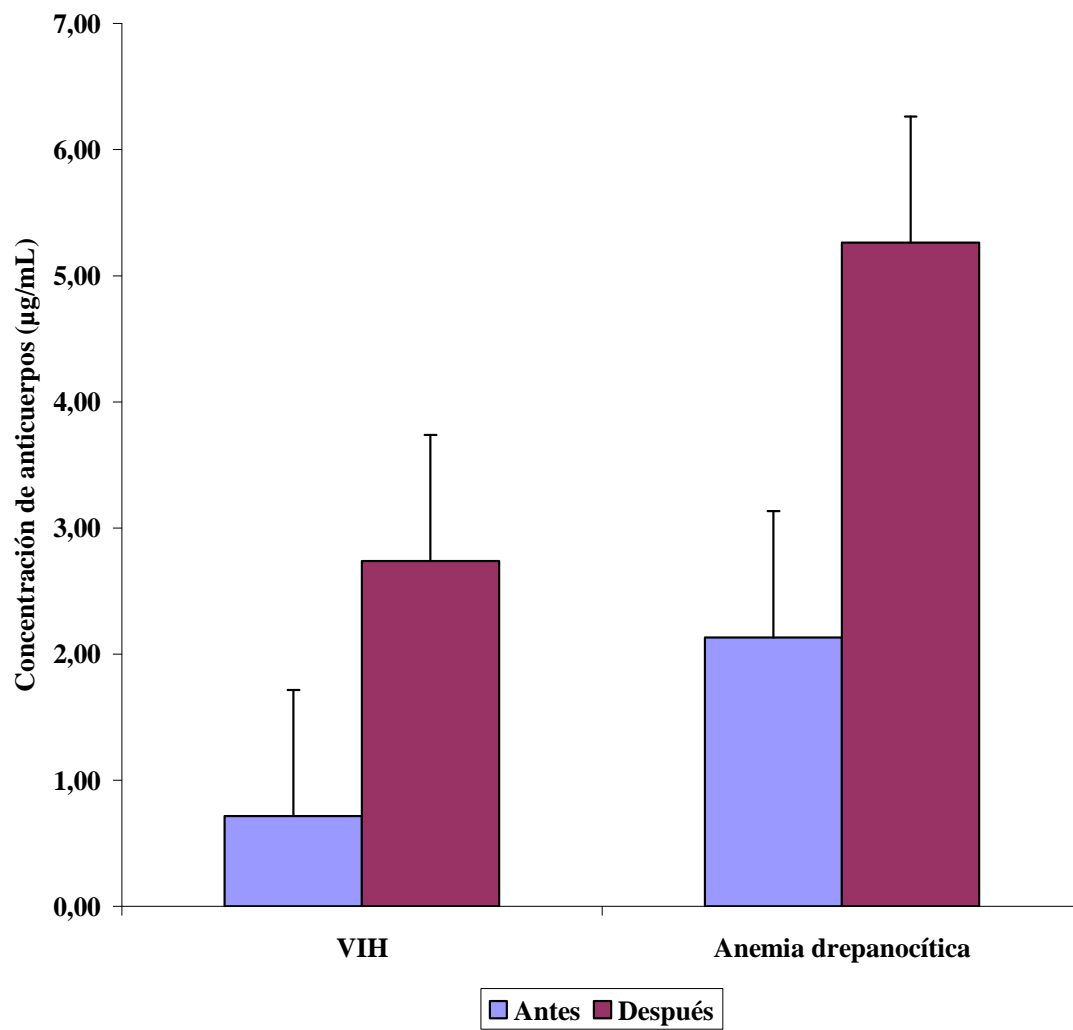


Gráfico 12.
Cambios en la concentración del serotipo 6B.

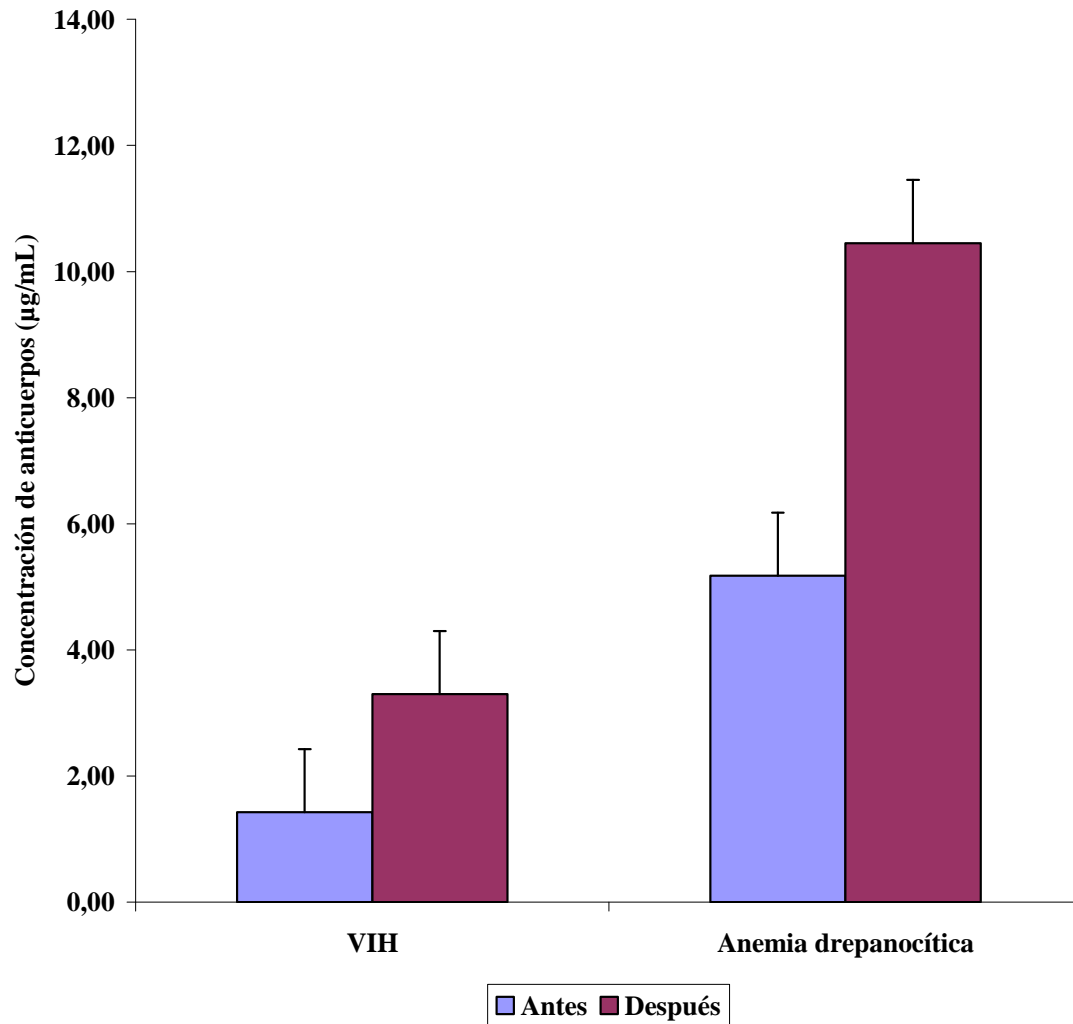


Gráfico 13.
Cambios en la concentración del serotipo 19F.

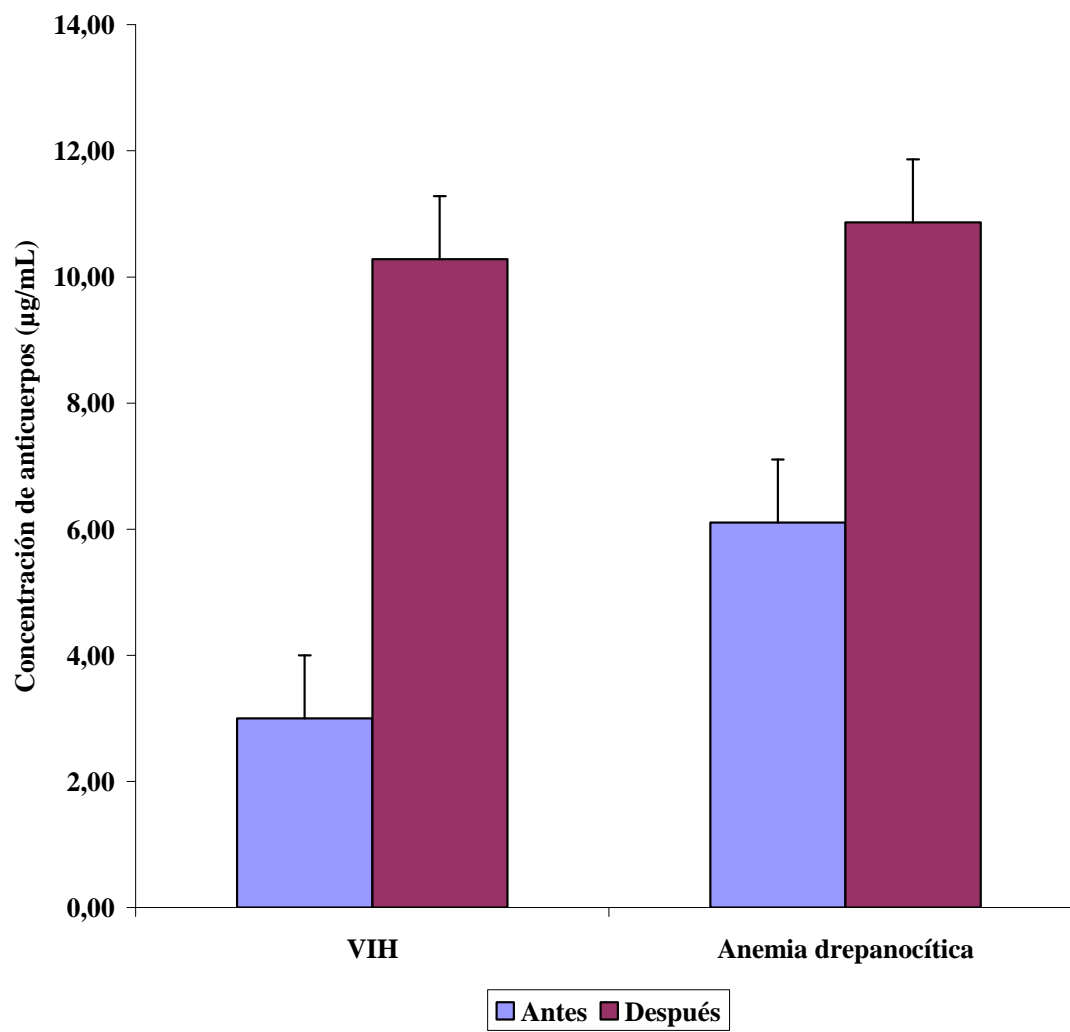


Gráfico 14.
Cambios en la concentración del serotipo 23F.

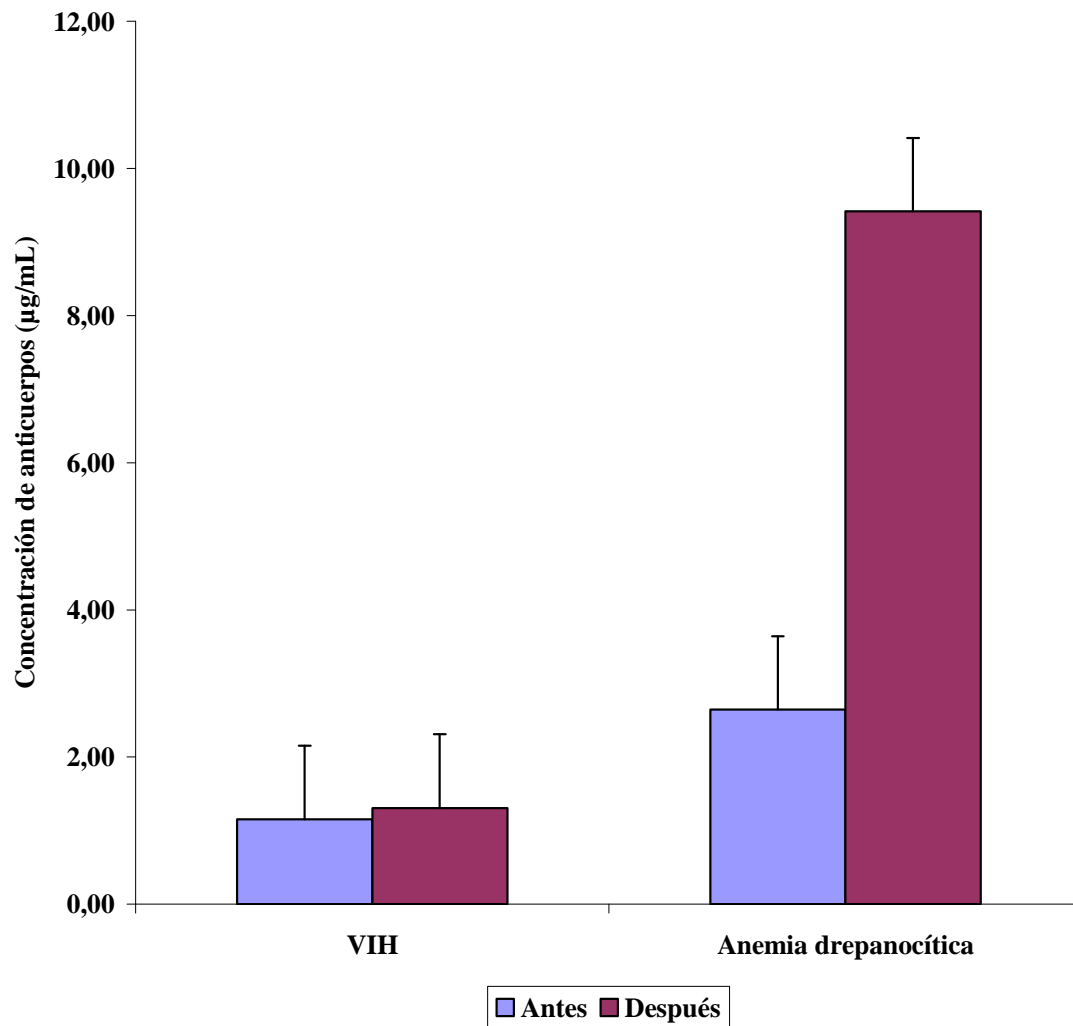


Gráfico 15.
Cambios en la concentración del serotipo 14.

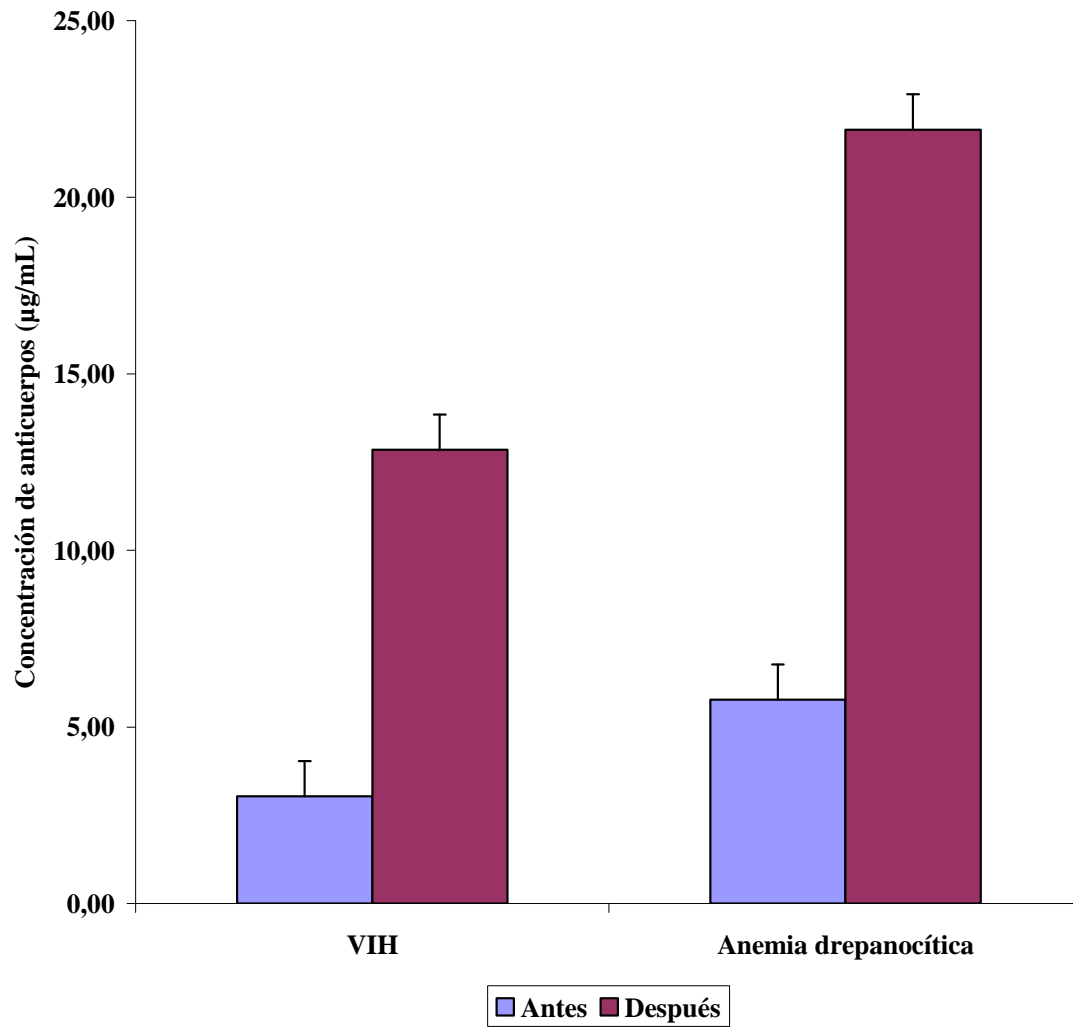


Gráfico 16.
Cambios en la concentración del serotipo 9V.

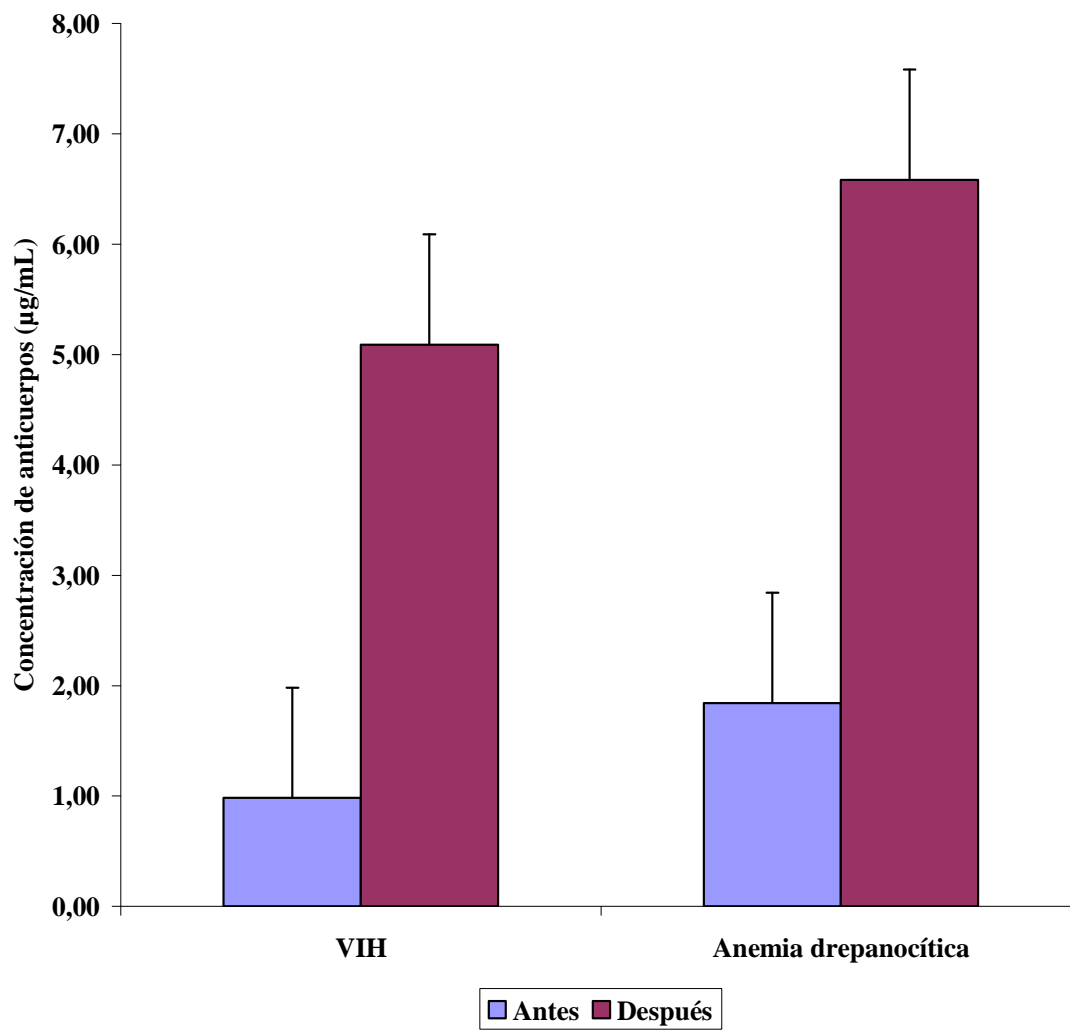


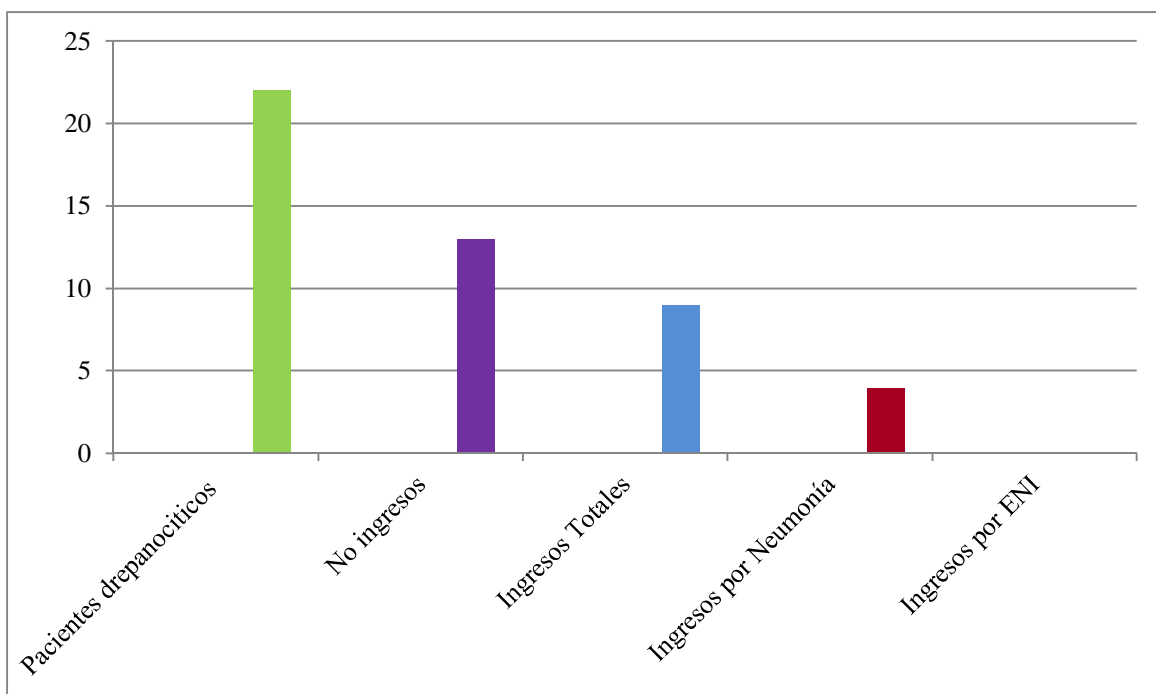
Tabla 7.

Ingresos de pacientes drepanocíticos y con VIH posterior a la última dosis de VCN7, por diagnósticos de enfermedad neumocócica invasiva (ENI)

Evaluación clínica y respuesta inmunológica a la vacuna VCN7 en pacientes con alto riesgo de enfermedad invasiva
Hospital J. M. de los Ríos 2007 - 2008

	Casos totales	No ingresos	Ingresos totales	Ingresos por (Neumonía)	Ingresos por Enf. Neumocócica Invasiva
Pacientes drepanocíticos	22 (64,7%)	13	9	4	0
Pacientes VIH	12 (35,3%)	7	5	0	0

Gráfico 17.
Casos de pacientes drepanocíticos ingresados por enfermedad neumocócica no invasiva,
posterior a la inmunización con VCN7



Fuente : tabla 7

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio sobre inmunogenicidad de la vacuna conjugada antineumococica 7 V en niños de alto riesgo en nuestro país, así como el primero en realizar evaluación clínica de este grupo de niños posterior a la inmunización. Los 34 pacientes de alto riesgo incluidos en nuestro estudio tienen diagnóstico de anemia drepanocítica 22 (64,7%) y VIH, 12 (35,3%), se conoce que estos pacientes constituyen grupos vulnerables para enfermedad invasiva⁽¹⁵⁾.

La colonización de la nasofaringe por patógenos potenciales se produce desde la niñez. La edad promedio para la primera adquisición de neumococo es 6 meses con un rango de 1 a 30 meses. Al año de edad 50-100% de los niños portan algún patógeno respiratorio. Estimaciones en países desarrollados reportan un porcentaje de colonización por *S. pneumoniae* hasta del 54% en niños menores de un año⁽¹⁶⁾. Algunos niños pueden ser colonizados hasta por 4 tipos diferentes de neumococos durante el primer año de vida, esto se debe a la combinación de susceptibilidad biológica incrementada a portar el neumococo, hábitos higiénicos deficientes y altas tasas de infección viral en este grupo etario⁽¹⁷⁾.

Algunos estudios han encontrado que los pacientes con enfermedad drepanocítica tienen menores tasas de portador nasofaríngeo de neumococo que controles de la misma edad. El uso de profilaxis con antibióticos ha reducido las tasas de colonización pero ha incrementado la colonización por cepas resistentes⁽¹⁸⁾. Otros estudios señalan que las tasas de portador son equivalentes a la población sana (30-40%). Sin embargo, los niños con drepanocitosis tienen entre 400-600 veces mayor riesgo de infección invasiva por neumococo con un curso de la enfermedad frecuentemente fulminante. Se han atribuido

como causas el deterioro progresivo de la función esplénica que puede comprometer el clearance bacteriano, defectos en la opsonización con anticuerpos anticapsulares y la mayor expresión del receptor del Factor Activador Plaquetario (PAF) en el endotelio vascular y epitelio de la vía respiratoria que favorece la penetración del microorganismo por mimetismo entre la fosfatidilcolina de la pared del neumococo y el PAF⁽¹⁹⁾

Actualmente la prevención de enfermedad neumocócica en pacientes con drepanocitosis se basa en la profilaxis antibiótica y la inmunización. La VCN7 ha demostrado ser bien tolerada, altamente inmunogénica y provee memoria inmune⁽²⁰⁾. En un estudio realizado por hematólogos del St. Jude Children's Research Hospital en Memphis, Tennessee, se describe que en pacientes con enfermedad drepanocítica luego de la introducción de la VCN7 en el año 2000 la tasa de enfermedad invasiva disminuyó en un 90,8% en menores de 2 años y en 93,4% en menores de 5 años con una cobertura vacunal del 67%, observando una respuesta inmune similar a la de los niños sin la enfermedad. Entre los serotipos aislados en pacientes con enfermedad invasiva luego de la introducción de la vacuna se involucra al serotipo 12F⁽²¹⁾. En otra publicación realizada en Atlanta el serotipo 6A representó el 36% de causantes de infección antes de la introducción de la vacuna conjugada en pacientes menores de 10 años con enfermedad drepanocítica⁽²²⁾.

En nuestro estudio de los 22 (64,7%) pacientes con anemia drepanocítica, 14 (63,6%) eran portadores nasofaríngeos negativos previos a la administración de VCN7 y posterior a la misma este porcentaje aumento a 77.3% , los portadores de los serotipos 3 (4.5%) 6,(4.5%) 19a (4.5%) y se mantuvieron igual , mientras que el paciente 1 (4.5%) con serotipo 14 se erradicó posterior a la inmunización con VCN7 , 4 pacientes (18,2%) eran portadores de serotipos no tipables lo cual disminuyó a 2 pacientes con serotipo no tipable posterior a la vacuna

El grupo de pacientes con HIV12 (35,3%), fueron referidos de la consulta especializada de infectología, la mayoría estaban institucionalizados y recibían terapia antirretroviral según estándares nacionales de salud. De los 12 pacientes HIV, 8 (58.3%) fueron portadores negativos de neumococo antes de la inmunización con VCN7, y solo 1 (8,3%) caso que era portador negativo antes de la vacuna después adquirió el serotipo 6, mientras que en 1(8,3%) caso se erradico el estado portador para el serotipo 14, sin embargo en 3 (24,9%) casos persistió el mismo serotipo 12F , 19a, y el serotipo 3 ; en 2 (16,6%) casos que no eran portadores nasofaríngeos adquirieron el serotipo 4F y NT .

El reemplazo de serotipos en nuemococo es un fenómeno referido como un aumento en la incidencia de enfermedad invasora neumocócica causada por serotipos no vacunales debido a la eficacia de la vacuna VCN7 en la prevención de portación nasofaríngea de los serotipos vacunales ⁽²³⁾ .

El reemplazo o sustitución de serotipos es un fenómeno que varios investigadores han observado después de la inmunización con vacunas conjugadas de neumococo (VCN). (24-25). En África, con VCN 5. Obaro reportó una disminución de la colonización de serotipos vacunales en niños que recibieron 2 a 3 dosis de la vacuna así como un incremento en la colonización de los serotipos no vacunales ⁽²⁴⁾. El mismo patrón en la colonización se observó con la VCN 9. La sustitución de serotipos ha sido atribuida a la disminución de la colonización por serotipos vacunales y un incremento en la proporción de la colonización por serotipos no vacunales ⁽²⁵⁾. Dagan demostró una clara correlación, inversamente proporcional, entre los niveles séricos de IgG serotipo específica y la probabilidad de tener una nueva colonización, por lo que se puede inferir que para que exista un reemplazo de serotipos es necesario alcanzar títulos elevados de anticuerpos séricos, serotipo específico, que posteriormente puedan difundir a la saliva ⁽²⁶⁻²⁷⁾ .

Al autorizarse la VNC7v se planteo la posibilidad de que los serotipos vacunales fuesen sustituidos por otros no vacunales en su nicho ecológico de la nasofaringe. Lo que ha sucedido, en primer lugar después de la comercialización, en mayor o menor grado según la cobertura vacunal alcanzada, es un cambio en la distribución de serotipos, ya que al reducirse la incidencia de los vacunales, aunque se mantengan los no vacunales, el porcentaje de los segundos es mayor. Para hablar con rigor de sustitución de serotipos, es decir, lo que se conoce como fenómeno de reemplazo, la disminución de la incidencia de unos serotipos y el aumento simultáneo de los otros, es imprescindible calcular la incidencia poblacional de la enfermedad por serotipo antes y después del inicio de la vacunación (casos por serotipo/población expuesta_100.000); si el reemplazo se refiere a la colonización nasofaríngea, se ha de valorar la tasa de prevalencia (portadores por serotipo/población estudiada_100). Cambios en la distribución porcentual de serotipos y reemplazo o emergencia de serotipos que ocurren por presiones externas, del uso de antibióticos o de una vacuna, son 2 conceptos que distingue claramente Salleras, ya que en algunos trabajos se establecen conclusiones erróneas acerca del reemplazo a partir de porcentajes de serotipos, al comparar series de enfermedad invasiva, unas antes y otras después de la vacunación. Esta distinción terminológica y conceptual es imprescindible ⁽²⁸⁾.

Los niños con VIH tienen entre 100-300 veces mayor riesgo de infección invasiva por neumococo. Se ha descrito en estos pacientes que defectos en la inmunidad local de las mucosas (producción de IgA) podrían favorecer persistencia de la colonización o disminuir la respuesta inmunológica desencadenada por los mismos. Por lo tanto, se esperarían altas tasas de colonización en esta población, a pesar de esto, Rusen *et al* en Kenia, Leibovitz *et al* en Rumania y Polack *et al* en Estados Unidos han demostrado que no hay diferencia entre el estado de portador de niños con infección por VIH y grupos controles en

poblaciones pediátricas. La profilaxis con antimicrobianos parece jugar un rol importante en el control de los patrones de colonización y resistencia antimicrobiana en cepas aisladas en niños con infección por VIH ⁽²⁹⁾.

En un estudio realizado en Brasil en niños con VIH entre 0 y 18 años se encontró una tasa de prevalencia de colonización nasofaríngea por neumococo de 28,6%. ⁽³⁰⁾

Aunque el estado de inmunosupresión no parece ser el elemento principal que determine la condición de portador nasofaríngeo, la respuesta a la vacuna conjugada está determinada por menor eficacia e inmunogenicidad que en no infectados. Desde la introducción de la terapia antirretroviral de alta eficacia (HAART) en Estados Unidos la tasa de bacteriemia por neumococo disminuyó en un 80%. Combinando los programas de vacunación con HAART se optimiza el desarrollo de memoria inmunológica y el mantenimiento de la protección al menos durante la primera década de la vida cuando hay mayor riesgo de enfermedad invasiva en niños infectados ⁽³¹⁾.

Las concentraciones de IgG anticapsular posterior a la vacunación con 7V están directamente relacionadas con el conteo de linfocitos T CD4 describiéndose respuestas cuantitativamente similares a niños no infectados pero diferencias cualitativas en cuanto a opsonifagocitosis, los pacientes sintomáticos tienen reducciones tanto cuantitativas como cualitativas de la respuesta de anticuerpos a la vacuna. ⁽³¹⁾ Se considera que un conteo de CD4 para el momento de la vacunación >500 células/mL reduce el riesgo de enfermedad invasiva por neumococo ⁽³²⁾.

La carga viral aumentada puede contribuir a la pérdida de células de memoria o puede limitar la inducción de la memoria inicial ya que la viremia por HIV impide la interacción entre los linfocitos B y T CD4, se ha sugerido que niveles menores de 400

copias/ml se asocian a mejor respuesta inmune primaria y mantenimiento de las concentraciones de anticuerpos ⁽³³⁾.

Además, ante una infección por neumococo los pacientes con el virus liberan menores niveles de IL-8 que pacientes no infectados lo cual puede afectar la quimiotaxis de los neutrófilos ⁽³⁴⁾.

La emergencia del 19 a en varias poblaciones está en función de múltiples y diferentes factores, la mayoría incluyen:

La prevalencia regional del 19 a, la invasividad potencial de las clonas del 19 A, el nivel de resistencia de los aislamientos, los patrones de empleo de antimicrobianos, la inmunología de la población, la presión de las vacunas después de su introducción ⁽³⁵⁾.

El serotipo 19 a igualmente es capaz de causar EIN, colonización nasofaríngea y OMA, tiene mayor prevalencia de colonización NF en el periodo pre-vacunación

Comparado con otros serotipos no-vacunales, elevada resistencia y multi-resistencia antimicrobiana, la presión de los antibióticos y las vacunas pudieran permitir la expansión de clonas pre-existentes del 19a ventaja ecológica, introducción de nuevas clonas del 19a en la población y probable transformación de serotipo (transformación capsular) ⁽³⁶⁾.

En nuestro estudio la evaluación clínica de los pacientes posterior a la administración de la VCN7 la mayoría de los pacientes estaban asintomáticos, sin embargo los que presentaron sospecha de enfermedad neumocócica no invasiva que ameritaron ingreso hospitalario el tiempo después de la administración de la última dosis de la vacuna antineumocócica heptavalente fue 23 ± 18 meses y los días hospitalizados promedio fueron 7 ± 5 días, del grupo total de pacientes drepanocíticos (22 pacientes) 9 ameritaron hospitalización y de estos 9 pacientes solo 4 presentaron sospecha de enfermedad neumocócica no invasiva: neumonía (sospecha, porque los pacientes tenía hemocultivos sin desarrollo bacteriano y no

comprobamos que la etiología fuese neumocócica) (gráfico 17) de estas neumonías 1 fue nosocomial, 1 de los 4 paciente era portador nasofaríngeo del serotipo 19a, y presentaba concentración de anticuerpos antineumococicos IgG específico $>0,35$ mcg/ml para los serotipos 18 C, 23F, 4, 19F,14, 9V, excepto para el serotipo 6B, de lo que podemos inferir que si la neumonía si fue neumocócica fue por un serotipo no vacunal; otro caso era portador nasofaríngeo de un serotipo no tipable que posterior a la vacuna se erradicó y presentaba concentración de anticuerpos antineumococicos IgG específico $>0,35$ mcg/ml 18C, 4 y 14 para el resto de los serotipos vacunales se desconoce. 1 Paciente era portador nasofaríngeo de serotipo no tipable que fue reemplazado por el serotipo 19a y presentaba concentración de anticuerpos antineumococicos IgG específico $>0,35$ mcg/ml para todos los serotipos vacunales, y el caso de la neumonía nosocomial quien había ingresado por crisis vaso oclusiva no era portador nasofaríngeo y presentaba también concentración de anticuerpos antineumococicos IgG específico $>0,35$ mcg/ml para todos los serotipos vacunales. De los 5 pacientes con VIH ingresados posterior a la inmunización con VCN7 ninguno presento enfermedad neumococcica no invasiva. Para ninguno de los dos grupos de estudio los pacientes presentaron enfermedad neumocócica invasiva. Llama la atención en nuestro estudio que los pacientes drepanocíticos ingresaron primero que los pacientes con HIV después de la administración de la última dosis de VCN7 y permanecieron más tiempo hospitalizados que los pacientes con VIH, si bien es cierto que en ambos grupos existe afectación de la inmunidad celular los ingresos de los pacientes drepanocíticos fueron condicionados en su mayoría por crisis vaso oclusivas (4 pacientes), secuestro esplénico (2), crisis aplásica (1).

Además en la evaluación clínica también analizamos los diagnósticos nutricionales, la mayoría fue nutrición y talla normal, tanto para HIV 9 (75%) como para drepanocíticos

13 (59.1%), desnutrición en zona crítica en igual proporción 1 HIV (8,3%) y 1 drepanocítico (4,5%) , el resto fue desnutrición en alguna de las siguientes categorías: grave, leve con talla normal, leve con talla normal baja, subclínica, subclínica con talla normal 1 caso HIV (8,3%); no se reportaron 5 (22,7%) diagnósticos nutricionales en pacientes drepanocíticos

Con respecto a la respuesta inmunológica a la vacuna conjugada se ha encontrado aumento de las concentraciones de anticuerpos séricos para cada uno de los serotipos después de la segunda dosis, y después de una tercera dosis las concentraciones de anticuerpos alcanzan o exceden 1mg/ml para todos los serotipos, sin embargo la respuesta inmunológica humoral no es uniforme para todos los serotipos incluidos en la vacuna. Los títulos de anticuerpos ante la mayoría de los serotipos declinan con el tiempo por lo que se justifica la aplicación de una dosis de refuerzo. Las concentraciones de anticuerpos después de una dosis de refuerzo varían entre 3 y 9 mg/ml⁽³⁷⁾.

En un estudio realizado por A. Balloch, PV Licciardi, A. Leachb, A. Nurkkac. M.L.K. Tang, realizado en Agosto 2009 en Australia sobre los resultados de una comparación entre los laboratorios de la medición de IgG neumocócicas serotipo- específicas y parámetros críticos que afectan el rendimiento del ensayo, concluyó que la cuantificación de IgG específica a los polisacáridos (serotipos) de *Streptococcus pneumoniae* es la base para evaluar la eficacia de la vacuna. Diferentes técnicas de inmunoabsorción enzimática (ELISA) son los métodos utilizados a nivel internacional, lo que hace difícil las comparaciones entre laboratorios. Se realizó una comparación entre dos laboratorios internacionales que realizaban pruebas ELISA Ig G serotipo específica utilizando un panel de muestras de suero bien caracterizados: el Murdoch Childrens Research Institute

neumocócica Laboratorio (Melbourne, Australia) y el Laboratorio de Inmunología de la Vacuna, National Public Health Institute

(Helsinki, Finlandia). Si bien se encontró una buena concordancia para la comparación entre laboratorios para la mayoría de los serotipos, las diferencias en la metodología de ELISA IgG específica sigue siendo un método fiable, preciso y proporciona resultados consistentes entre los laboratorios internacionales ⁽³⁸⁾.

En nuestro estudio con respecto a la variación en la concentración de anticuerpos Ig G específico al serotipo de neumococo antes y después de la vacuna PVC-7, se aplicó la prueba de Mc Nemar; los contrastes de tipo independientes se basaron en la prueba X^2 de Pearson. Los contrastes antes-después de la concentración de anticuerpos se realizaron utilizando la prueba no paramétrica W de Wilcoxon. Se consideró un valor significativo de contraste si $p < 0,05$ Los datos fueron analizados con JMP-SAS versión 9.

A continuación señalamos para los siguientes serotipos el valor respectivo de p; 18C: $p=0,120$, 4: $p= 0,421$, 6B: $p=0,056$, 19F: $p =0,865$, 23F: $p= 0,000$, 14: $p= 0,053$, 9V: $p = 0,359$.

Evidenciamos que en el grupo VIH se incrementó la concentración de anticuerpos en los serotipos: 18C, 19F, 23F, 14 y 9V, el resto se incremento aunque no fue estadísticamente significativo (serotipos 4 y 6B); el grupo de pacientes con anemia drepanocítica, hubo incrementos de los serotipos 18C, 4, 6B, 23F, 14 y 9V (todos significativos), a excepción del serotipo 19F que aunque incrementó su concentración, no fue un cambio significativo .El serotipo vacunal 6B se encuentra asociado frecuentemente a resistencia a la penicilina. Los tipos 6A y 6B se han identificado en niños venezolanos menores de 5 años con enfermedad invasiva con una frecuencia de 3,7% y 13,8%, respectivamente con cifras similares a nivel de Latinoamérica. El serotipo 6C se describió en el 2007 ya que puede

hacer reacciones serológicas cruzadas con el serotipo 6A y ha sido asociado a infecciones con una frecuencia creciente ⁽³⁹⁾.

La respuesta de protección obtenida después de la vacunación en todos los pacientes reflejó la condición de protegidos, esta respuesta se obtuvo como el escalamiento de la concentración de anticuerpos, considerando respuesta protectora si dicha concentración era superior a 0,35 microgramos/mL por técnica de Elisa 22 – F inhibición.

En concordancia con los estudios clínicos, que demostraron la eficacia e inmunogenicidad en la prevención de la enfermedad neumocócica invasora causada por los serotipos vacunales y acreditaron en el año 2000 la comercialización en los Estados Unidos de Norte América de la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente. Nuestro estudio, reportó una excelente respuesta inmunogénica de la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente con una notable respuesta protectora y eficacia clínica; en un grupo de niños de Alto Riesgo para enfermedad invasiva por neumococo; en condición inmunosupresora como es el VIH y la Anemia Drepanocítica.

CONCLUSIONES

En los niños incluidos en la investigación portadores de Anemia Drepanocítica y VIH; con alto riesgo para enfermedad neumocócica invasiva:

1.- La Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente aumentó las concentraciones de anticuerpos séricos a niveles mayores de 0.35 microgramos/ml; para c/u de los serotipos después del esquema de inmunización de acuerdo a la edad. La respuesta de protección después de la vacunación de todos los pacientes se considera como condición de protegidos.

2 - En el grupo VIH se incrementó la concentración de anticuerpos en los serotipos: 18c, 19f, 23f, 14 y 9v; En el grupo de pacientes con Anemia Drepanocítica, hubo incrementos de los serotipos 18c, 4, 6b, 23f, 14 y 9v.

3.- En la evaluación clínica de los pacientes posterior a la inmunización con la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente; se evidenció disminución de la incidencia de la enfermedad neumocócica invasiva.

4.- La buena inmunogenicidad de la vacuna se demuestra y correlaciona con una excelente respuesta protectora y eficacia clínica; en un grupo de niños de Alto Riesgo para enfermedad invasiva por neumococo; en condición inmunosupresora como es el VIH y la Anemia Drepanocítica.

5.- De los 34 pacientes de alto riesgo incluidos en nuestro estudio, ninguno presentó enfermedad neumocócica invasiva posterior a la inmunización con la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente

6.- Los niños estudiados VIH y Drepanocíticos; con alto riesgo para enfermedad invasiva, presentaban diagnóstico de nutrición y talla normal

RECOMENDACIONES

- 1.- El reemplazo o sustitución de serotipos se observó después de la inmunización con la Vacuna Conjugada Neumocócica Heptavalente; lo que nos demuestra que debe aplicarse refuerzos con la nuevas vacunas neumocócicas.
- 2.- La vigilancia post-vacunación es de gran importancia para detectar la presencia de enfermedades neumocócicas y el reemplazo de serotipos, y demostrar la eficacia de la vacuna.
- 3.- En pro de desarrollar la atención sanitaria preventiva, se recomienda intensificar esfuerzos para incluir la PVC 7 en el programa ampliado de inmunizaciones.

REFERENCIAS

- 1) Musher D. Streptococcus pneumonia, IM: Trandel GL; Bemmentt JE, Dolin R; Editor. Principles and practices of infectious diseases, 4th Ed. New York: Churchill.Livingstone cap 1955;1811-26
- 2) Kellner J, McGeer A, Cetron M, Donald L, Buttler J, Matlow A, et al. The use of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal isolates from healthy children to predict features of invasive disease. *Pediatr Infect Dis J.* 1998;17(4):279-286
- 3) Pickering, Larry. Baker, carol. Overtruf, Gary. Prober, Chales. Redd Book: enfermedades infecciosas en pediatría 27a ed Buenos Aires: medica Panamericana, 2008. P 502- 512
- 4) Kyaw MH; Lynfield R; Schaffner W; Craig AS; Hadler J; Reingold A, et al. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med.* Apr 2006; 354(14):1522-4.
- 5) Cruz, M. Salazar, R. Tratado de Pediatría 9a Ed. Infecciones por bacterias gram positivas. Infecciones estreptocócicas. Sección 7. Cap 7.1 P: 487-487-494 García-Rodríguez J y Fresnadillo M. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002; 50 (S2): 59–73.

- 6) A. Balloch, P.V. Licciardi, A. Leach, A. Nurkka, M.L.K. Tang. Results from an inter-laboratory comparison of pneumococcal serotype-specific IgG measurement and critical parameters that affect assay performance. Elsevier Vaccine 28 (2010) 1333–1340
- 7) Sutliff WD, Finland M. Antipneumococci immunity reactions in individuals of different ages. J. Exp Med 1932, 55:837-852
- 8) WHO: **State of the art of new vaccines: research & development:** Acute respiratory infections, Bacterial respiratory infections, *Streptococcus pneumoniae*. 2004. Tomado el 15 de abril 2005; disponible en:
http://www.who.int/vaccine_research/documents/new_vaccines/en/index2.html
- 9) Del Nogal B, Vigilanza P, Rivera I, Rivero T, De Waard J. Estado de Portador de *Streptococcus pneumoniae* y Morbilidad por Infecciones Respiratorias Agudas (IRA) en la población infantil Warao. Archivos venezolanos de Pediatría y Puericultura. 2006; 69(1): 5-10
- 10) Fuentes M, Cortes R, Del Nogal B Vacuna neumocócica heptavalente en niños con alto riesgo, portadores de *Streptococcus pneumoniae*. Caracas Noviembre 2009
- 11) Zangwill KM, Vadheim CM, Vannier AM, Hemenway LS, Greenberg DP, Ward JI. Epidemiology of invasive pneumococcal disease in southern California: implications for the design and conduct of a pneumococcal conjugate efficacy trial. J. Infect Dis. 174:752-759

12) Asociación Española de Pediatría. La enfermedad neumocócica y su prevención. Vacuna neumocócica conjugada heptavalente. *Anales de Pediatría* 2002; 56 (1): 79-90.

13) García-Rodríguez J y Fresnadillo M. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002; 50 (S2): 59–73.

14) Zhang O, Bagrade L, Bernatoniene J, Clarke E, Paton J, Mitchell T et. al. Low CD4 T cell immunity to pneumolysin is associated with nasopharyngeal carriage of pneumococci in children. *JID* 2007; 195: 1194-1202.

15) Rückinger S, von Kries R, Siedler A y van der Linden M. Association of serotype of streptococcus pneumonia with risk of severe and fatal outcome. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 118-122

16) García-Rodríguez J y Fresnadillo M. Dynamics of nasopharyngeal colonization by potential respiratory pathogens. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002; 50 (S2): 59–73.

17) Díaz A, Calbo E, Cuchí E, García R, García-Rey C, Tobeña L et. al. Impact of amoxicillin, associated or not with clavulanic acid, on pharyngeal colonization and selection of *Streptococcus pneumoniae* resistance in children under 5 years of age. *Eur J Pediatr* 2007; 166: 467-471.

- 18) Pérez-Trallero E, Ercibengoa M, López- Lopategui MC, I dígoras P, Marimón JM. Enfermedad invasiva por *Streptococcus pneumoniae* serotipo 1 en Gipuzkoa: estudio de 109 episodios. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26:175.
- 19) Adamkiewicz T, Silk B, Howgate J, Baughman W, Strayhorn G, Sullivan K et al. Effectiveness of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine in children with sickle cell disease in the first decade of life. *Pediatrics* 2008; 121 (3): 562-569.
- 20) Halasa N, Shankar S, Talbot T, Arbogast P, Mitchel E, Wang W et al. Incidence of Invasive Pneumococcal Disease among Individuals with Sickle Cell Disease before and after the Introduction of the Pneumococcal Conjugate Vaccine. *CID* 2007; 44: 1428-1433.
- 21) Reinert P, Benkerrou M, de Montalembert M, Lesprit E, Abadie I, Bernaudin F et al. Immunogenicity and safety of a pneumococcal conjugate 7-valent vaccine in infants with sickle cell disease. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 1105-1109.
- 22) Gonzalez-Fernandez A, Faro J, Fernandez C. Immune responses to polysaccharides: lessons from humans and mice. *Vaccine* 2008;26(January 17 (3):292–300.
- 23) De Cunto Brandileone María Cristina, Simposio Regional de Nuevas Vacunas Lima, Perú Diciembre 1-2, 2009 Instituto Adolfo Lutz, Sao Paulo, Brazil. Emergencia Potencial de Nuevos Serotipos Neumocócicos en el Periodo Post-Vacuna

- 24) Obaro SK, Adegbola RA, Banya WA, Greenwood BM. Carriage of pneumococci after pneumococcal vaccination. *Lancet* 1996; 348: 271-272.
- 25) Ghaffar F, Barton T, Lozano J, Muniz LS, Hicks P, Gan V, *et al.* Effect of the heptavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Nasopharyngeal Colonization by *Streptococcus pneumoniae* in the first 2 years of life. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 930-938.
- 26) Dagan R, Givon-Lavi N, Fraser D, Lipsitch M, Siber GR, Kohberger R. Serum serotype-specific pneumococcal anticapsular immunoglobulin G concentrations after immunization with a 9-valent conjugate pneumococcal vaccine correlate with nasopharyngeal acquisition of pneumococcus. *J Infect Dis* 2005; 192: 367-376.
- 27) Nurkka A, Ahman H, Korkeila M, Jääntti V, Käyhty H, Eskola J. Serum and salivary anti-capsular antibodies in infants and children immunized with the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20: 25-33
- 28) Moraga-Llop, Fernando A. Enfermedad neumocócica en la era vacunal y emergencia de serotipos. ¿Tendencias temporales y reemplazo de serotipos? Unidad de Enfermedades Infecciosas Pediátricas, Área Materno-Infantil, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Universidad Autónoma de Barcelona, España Enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Elsevier Doyma. www.Elsevier.es/eimc
- 29) Abzug M y Pelton S. Prevention of invasive pneumococcal disease in HIV- infected children: expanding the toolbox. *JID* 2009; 199: 1109-1111.

- 30) Cardoso V, Cervi M, Cintra O, Salathiel A y Gomes A. Nasopharyngeal colonization with *Streptococcus pneumoniae* in children infected with human immunodeficiency virus. *J Pediatr (Rio J)*. 2006; 82(1):51-7.
- 31) Klugman K, Madhi S y Feldman C. HIV and pneumococcal disease. *Curr Opin Infect Dis* 2007; 20: 11-15.
- 32) Dworkin M, Ward J, Hanson D, Jones J, Kaplan J. Pneumococcal Disease among Human Immunodeficiency Virus–Infected Persons: Incidence, Risk Factors, and Impact of Vaccination. *CID* 2001;32. 794- 800.
- 33) Madhi S, Klugman K, Kuwanda L, Cutland C, Käyhty H, Adrian P. Quantitative and qualitative anamnestic immune responses to pneumococcal conjugate vaccine in HIV-infected and HIV-uninfected children 5 years after vaccination. *JID* 2009; 199: 1168-1176
- 34) O’Brien KL, Moulton LH, Reid R, Weatherholtz R, Oski J, Brown L, et al. Efficacy and safety of seven-valent conjugate pneumococcal vaccine in American Indian children: group randomised trial. *Lancet* 2003;362(August 2 (9381)):355–61.
- 35) Brueggemann et al. *PLoS Pathogens*.2007;3(11):1628; Moore et al. *JID*.2008;197:1016.

36) Byington et al Clin Infect Dis 2005;41:21; Feikin et al. Clin Infect Dis 2002;35:547; Fletcher et al. Pediatr Infect Dis 2006; 25:559; Lagos et al. J Infect Dis 2008;198:1809; Nunes et al. Clin Microbiol Infect 2008;14:82; Fenol et al. 16th WSPID, 2009.

37) O'Brien K, Bronsdon M, Dagan R, Yagupsky P, Janco J, Elliott J, et al. Evaluation of a Medium (STGG) for Transport and Optimal Recovery of *Streptococcus pneumoniae* from Nasopharyngeal Secretions Collected during Field Studies. J Clin Microbiol. 2001; 39(3):1021-1024

38) Shriner AK, Smithson SL, Prinz DM, Rabquer B, Khuder S, Goomber R, et al. Comparison of the human immune response to conjugate and polysaccharide pneumococcal vaccination using a reconstituted SCID mouse model. Vaccine 2006;24(September (49–50)):7197–203.

39) Whitney CG, Pilishvili T, Farley MM, Schaffner W, Craig AS, Lynfield R, et al. Effectiveness of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine against invasive pneumococcal disease: a matched case-control study. Lancet 2006; 368: 1495-1502.

ANEXOS**Anexo I****Hoja de recolección de datos****Evaluación clínica de pacientes de alto riesgo**

Nº Paciente _____

Nº historia archivo central (si aplica) _____

I. Demografía

I.1 Nombres y Apellidos: _____

I.2 - Teléfonos:

I.2.1-Residencial: _____ I.2.2-Móvil: _____

I.2.3-Oficina: _____ I.2.4-Familiar: _____

I.2.5-Nombre del familiar: _____ I.2.6-Parentesco: _____

I.3 - Fecha de Nacimiento: ___/___/___

I.4 Raza: Asiática _____ Blanca _____ Negra _____ Latina _____

I.5 - Sexo: F _____ M _____

I.6 - Edad: _____ años _____ meses

I.7 - Peso al nacer: _____ Kg. _____ gr.

I.8 - Dirección de habitación:

I.8.1 Urbanización/Sector: _____ I.8.2 -Calle/Av.: _____

I.8.3 Edif./Casa Nº: _____ I.8.4 - Municipio: _____

I.8.5 - Ciudad/ Estado: _____ I.8.6- Punto de referencia: _____

II. Ingreso hospitalario:

II.1- Fecha: _____

II.2 - Cuanto tiempo después de la última dosis de PCV-7V _____

II. 3- Días de Hospitalización _____

II.4- Motivo de Consulta _____

II.5 - Diagnóstico de Ingreso: _____

II.5.1 Enf. Neumococica Invasiva

II.5.2 Enf. Neumococica No Invasiva

II.6- Cultivos:

II. 6.1 fecha _____ II.6.2Germen _____

II.6.3Sencibilidad _____

II.6.4Resistencia _____

II.7- Tratamiento recibido _____

II.8- Evolución Clínica:

II.8.1- Mejoría _____ II.8 Gravedad _____

II.8.3 Muerte_____

II.9- Diagnóstico De Egreso:

III. Examen físico actual

III.1- Peso_____ Kg _____ Gr

III.2 – Talla _____cm

III.3- Circunferencia

Cefálica_____

III.4- Circunferencia Brazo Izquierdo _____

III.5- Diagnóstico Nutricional _____

III. 6- Desarrollo Psicomotor_____

III.7- Hallazgos Positivos:

Anexo II**Consentimiento Informado****Tutora: Dra. Berenice del Nogal****Asesores: Dr. Jacobus De Waard, Lic. Ismar Rivera****Autoras: Residentes Briseida Siverio y Mariella Mijares****Título del Estudio: Evaluación Clínica y Respuesta Inmunológica a la Vacuna
Neumocócica conjugada Heptavalente en Niños de Alto Riesgo****Número de Protocolo:**

Iniciales del Paciente

Número del Paciente

Fecha de Nacimiento

INTRODUCCIÓN

Se le está solicitando que su hijo(a) o representado(a) participe en un estudio clínico de investigación. Un estudio de investigación recoge información sobre una enfermedad o un medicamento experimental. Este estudio de investigación recolecta información sobre la enfermedad causada por una bacteria llamada *Streptococcus pneumoniae* y de cómo su niño (a) desarrolla protección con la vacuna antineumococo 7 serotipos.

Su hijo(a) o representado(a) participará en este estudio únicamente si usted quiere que lo haga. Es importante que usted disponga de la información que necesite saber sobre este estudio, para que de esta manera pueda decidir si quiere que su hijo(a) o representado(a) participe. Un personal del equipo, conversará con usted sobre este estudio, y responderá sus preguntas. Usted puede igualmente conversar con familiares y amigos sobre su decisión. Por favor tome su tiempo para decidir.

Aproximadamente 100 niños(as) participarán en este estudio, en el servicio de Niños Sanos del Hospital de Niños. La participación de su hijo(a) o representado(a) en este estudio durará un máximo de 1 hora cada visita

Propósito del estudio

El propósito de este estudio es determinar la inmunogenicidad de la vacuna Neumocócica heptavalente y realizar una evaluación clínica en niños(as), alto riesgo, con edades comprendidas entre 2 meses y 5 años de edad, esta bacteria *Streptococcus pneumoniae*

(también llamado neumococo), puede causar varios tipos de infección como otitis media, meningitis, neumonía, bacteriemia, septicemia, infección en las articulaciones o los huesos.

Por ser su hijo o representado un niño de alto riesgo para enfermedad neumocócica, fue elegido para ser vacunado en forma gratuita, con la vacuna antineumocócica 7 valente. Se vigilarán las reacciones adversas a la vacuna, se determinará la respuesta inmunológica a la vacuna, en otras palabras la protección que el niño desarrollará contra los serotipos de neumococos incluidos en la vacuna. Se le realizará un seguimiento clínico durante un año.

A su hijo(a) o representado(a) se le pide participar en este estudio de portador sano de la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, en la nasofaringe, debido a que no presenta la enfermedad actualmente.

Procedimientos del estudio

Antes que su hijo(a) o representado(a) pueda participar en este estudio, se le formularán preguntas a usted, para poder evaluar si es elegible para el estudio. Esto se llama despistaje. Es importante, que conteste de la manera más completa y honesta posible, las preguntas que se le harán. Si se determina que su hijo(a) o representado(a) es elegible, él o ella debe continuar su participación en el estudio, el cual va a requerir el siguiente proceso:

Durante la toma de las muestras el investigador le preguntará una serie de preguntas sobre la salud de su niño(a) y su situación de vida. Un médico pediatra con mucha experiencia tomará una muestra, con un hisopo flexible de algodón, de la nasofaringe (zona intermedia entre la nariz y la garganta), a través de la nariz, para constatar la presencia de alguna bacteria en esa zona. Este es un procedimiento completamente indoloro que consiste en

introducir por una de las fosas nasales un hisopo de algodón muy delgado (2mm de diámetro) flexible hasta la pared posterior de la nasofaringe, que se localiza sobre el paladar blando y se comunica con las fosas nasales. Es un procedimiento sumamente rápido, toma aproximadamente 10 segundos y que solamente ocasiona una ligera molestia al retirar el hisopo ocasionando que en ciertas ocasiones que el niño estornude un par de veces. Si se encuentra en la muestra alguna bacteria, después que la muestra se haya llevado al laboratorio, se harán pruebas adicionales a la muestra, para identificar el tipo de bacteria y los tipos de antibióticos que actúan contra ésta.

Se tomará muestra de saliva introduciendo un algodón estéril debajo de la lengua

Se tomarán una muestra de sangre (2ml)

Estas muestras serán congeladas y trasladadas al laboratorio para demostrar que se desarrolle una respuesta inmunológica a la vacuna.

Posterior a la toma de muestras, se aplicará la Vacuna Neumocócica 7 Valente, 0.5 ml vía intramuscular.

Su hijo va a ser observado por un período de 30 minutos aproximadamente, posterior a la toma de las muestras y aplicación de la vacuna, para asegurarnos que no se presenten problemas.

Se entregará tarjeta de identificación de participación en el protocolo.

Riesgos

Los riesgos de participar en este estudio incluyen, pero no se limita a los siguientes:

Toma de muestra de nasofaringe: Su hijo(a) o representado(a) puede presentar ligera molestia al retirar el hisopo ocasionando que en ciertas ocasiones que el niño estornude un par de veces, más rara vez sangrado nasal.

Inherentes a la toma de muestra de saliva, toma de muestra de sangre y aplicación de la vacuna. Podría presentarse sangrado en sitios de venopunción en caso de tendencia hemorrágica por enfermedad de base.

Beneficios asociados con este estudio

Otros pueden beneficiarse de la información que se aprenda en este estudio. El niño se beneficia por aplicar la vacuna.

Si su hijo(a) o representado(a) es lesionado(a) durante este estudio, y sus lesiones son el resultado directo del estudio, el patrocinador pagará por el tratamiento médico razonable y necesario de la lesión, que no esté cubierta por su seguro médico, programa del estado u otra tercera persona responsable.

Alternativas a la participación

La alternativa para él o ella es la de no participar.

Confidencialidad

Los datos de su hijo(a) o representado(a) que se tomen para este estudio son confidenciales a menos que por ley se requiera que ciertas personas los vean. El patrocinador (o sus representantes), monitores, auditores, entes regulatorios y comités de ética pueden ver y copiar la información médica de su niño(s), recopilada en este estudio, para llevar a cabo

sus obligaciones o como se requiera por ley. El nombre de su niño(a) o la información de identificación no se usará en reportes o publicaciones que resultasen de este estudio.

Si la muestra de nasofaringe de su niño(a) tiene la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, u otra bacteria, ésta va a ser almacenada por la posibilidad de realizar pruebas adicionales en el futuro.

Pago o reembolso

A usted no se le pagará por la participación de su hijo(a) o representado(a). Sin embargo la aplicación de la vacuna es gratuita y se garantiza el cumplimiento de todas las dosis correspondientes de acuerdo a la edad del niño (a).

Costos

El cultivo de la muestra de nasofaringe requerido por el protocolo se hará sin costo alguno para usted. También el estudio inmunológico no trae costos ningunos

Usted no tendrá gastos adicionales por la participación de su niño(a) en este estudio.

Contactos

Si tiene usted preguntas sobre los derechos de su hijo(a) o representado(a) como un sujeto de investigación, por favor, llame a cualquiera de los números que se le entregan en el carnet de identificación.

Participación voluntaria

La participación de su hijo(a) o representado(a) en este estudio es voluntaria. Usted puede parar la participación de su niño(a) en cualquier momento. Si usted quisiera que su hijo

abandone el estudio, su niño(a) no perderá ningún beneficio que usted obtendría si siguiera. Si su niño(a) abandona el estudio, usted puede pedir que las muestras identificadas de su niño(a) sean destruidas. La participación de su niño(a) en este estudio puede terminarse por decisión del investigador o del patrocinador, sin su consentimiento, si esto es por el mejor interés médico de su niño(a), usted no sigue las instrucciones del investigador o por otras razones. Si su niño(a) abandona el estudio tempranamente, él o ella no necesitará procedimientos adicionales inherentes a este estudio.

Consentimiento

Se me explicó la información que describe este estudio de investigación. Yo he leído y entendido este formato. Todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Yo consiento voluntariamente que mi hijo(a) o representado(a) participe en este estudio de investigación y que su historia médica sea revelada como se describe en este formato.

Yo no renuncio a los derechos legales de mi hijo(a) o representado(a) firmando este Informe de Consentimiento. Yo recibiré una copia firmada y fechada de este informe de consentimiento.

Padre del sujeto:

Representante legal aceptable (si aplica):

Persona que obtiene el consentimiento:

Testigo* (si aplica):

* No se requiere testigo a menos que el sujeto no sepa leer (ciego o iletrado) o a menos que esté indicado en el protocolo. Si un testigo está presente, éste debe observar el proceso del informe de consentimiento completo.

Anexo III**Hoja de recolección de datos****Nº Paciente** _____**Nº historia archivo central (si aplica)** _____**I Demografía****I.1 Nombres Apellidos:** _____**I.2 - Teléfonos:****I.2.1-Residencial:** _____ **I.2.2-Móvil:** _____**I.2.3-Oficina:** _____ **I.2.4-Familiar:** _____**I.2.5-Nombre del familiar:** _____ **I.2.6-Parentesco:** _____**I.3 - Fecha de Nacimiento:** ___/___/___**I.4 Raza:** Asiática _____ Blanca _____ Negra _____ Latina _____**I.5 - Sexo:** F _____ M _____**I.6 - Edad:** _____ años _____ meses**I.7 - Peso al nacer:** _____ Kg. _____ gr.**I.8 - Dirección de habitación:****I.8.1 Urbanización/Sector:** _____ **I.8.2 -Calle/Av.:** _____**I. 8.3 Edif./Casa Nº:** _____ **I.8.4 - Municipio:** _____**I.8.5 - Ciudad/ Estado:** _____ **I.8.6- Punto de referencia:** _____

II Criterios de inclusión

II.1 - Consentimiento Informado firmado y fechado antes de la participación en el

estudio: SI____ NO____ II.1.1 - Fecha de la firma: ___/___/___

II.2 - Edad de 2 meses o más, menor o igual a 59 meses: SI____ NO____

II.3 - Condición inmunosupresora: SI____ NO____

II.3.1 - Infección por VIH y/o SIDA: _____ II.3.1.1 - Contaje de CD 4: _____

II.3.1.2 - Tratamiento antirretroviral: _____

II.3.2 - Anemia drepanocítica: _____

II.3.3 - Asplenia congénita o funcional: _____

II.3.4 – Inmunodeficiencia congénita: _____

II.3.5 – Cardiopatía crónica (cianógena o con ICC): _____

II.3.6 – Neumopatía crónica (incluye asma con altas dosis de esteroides): _____

II.3.7 – Fugas de LCR: _____

II.3.8 – Insuficiencia renal crónica (incluye síndrome nefrótico): _____

II.3.9 – Enfermedad con terapia inmunosupresora o radioterapia (incluye neoplasias malignas, leucemias, linfomas, trasplante de órgano sólido): _____

II.3.10 – Diabetes Mellitus: _____

IV Información de vacunación previa

IV.1 - ¿Ha recibido la vacuna conjugada neumocócica heptavalente antes del estudio? SI____ NO____ Desconoce____

IV.1.1 - Si la respuesta es sí diga, número de dosis y la fecha de administración:

Fecha de 1era dosis: ___/___/___ **Fecha de 2da dosis:** ___/___/___

Fecha de 3era dosis: ___/___/___ **Fecha de 4ta dosis:** ___/___/___

IV.2 - ¿Ha recibido alguna vacuna neumocócica polisacárida antes del estudio?

SI___ NO___ Desconoce___

IV.3 - ¿Ha recibido la vacuna H. influenzae? SI___ NO___ Desconoce___

IV.3.1 - Si la respuesta es positiva diga número de dosis y fecha de administración:

Fecha de 1era dosis: ___/___/___ **Fecha de 2da dosis:** ___/___/___

Fecha de 3era dosis: ___/___/___ **Fecha de 4ta dosis:** ___/___/___

V Factores de riesgo

V.1 – Tipo de Residencia: Urbana_____ Rural _____

V.2 - Graffar - Méndez Castellano: Total de Puntaje _____

V.3 - Uso de antibióticos: SI___ NO___ Desconoce___

V.3.1 - Fecha de Inicio: ___/___/___ Fecha de Culminación: ___/___/___

V.3.2 - En los 7 días previos a la de la muestra: SI___ NO___ Desconoce___

V.3.2.1- Especifique tipo de antibiótico: _____ V.3.2.2-Causa de la toma: _____

V.3.3 - En los 30 días previos: SI___ NO___ Desconoce___

V.3.3.1-Especifique tipo de antibiótico: _____ V.3.3.2-Causa de la toma: _____

V.3.4 - En los 60 días previos: SI___ NO___ Desconoce___

V.3.4.1-Especifique tipo de antibiótico: _____ V.3.4.2- Causa de la toma: _____

V.4Otros tratamientos: _____

V. 5 - Asiste a una guardería o preescolar: SI___ NO___ Desconoce___

V.5.1 - Si su respuesta es positiva especifique:

Edad de inicio: _____ Horas semanales que asiste: _____

V.6 - ¿Es o ha sido alimentado con leche materna? SI____ NO____ Desconoce____

V.6.1 - En caso afirmativo: ¿Por cuánto tiempo?_____ meses

V.7 - ¿Hay fumadores en el hogar? SI____ NO____ Desconoce____

V.8 - ¿Cuántas personas viven en el hogar incluyendo el paciente?_____

V.9 - ¿Cuántos hermanos o niños con edades entre 2 y 59 meses conviven con el paciente?_____

V.10 - Historia previa de otitis media aguda: SI____ NO____ Desconoce____

V.10.1 - En caso afirmativo, ¿cuántos episodios ha tenido en el último año? _____

V.11 - Historia previa de neumonía: SI____ NO____ Desconoce____

V.11.1 - En caso afirmativo: ¿hubo confirmación radiológica? SI____ NO__ Desconoce__

V.11.2 ¿Resultó algún cultivo positivo para *S. pneumoniae*? SI____ NO__ Desconoce____

V.12 - Indicar la presencia de alguna de las siguientes enfermedades o condiciones crónicas diferente a la que motiva su inclusión en el protocolo:

V.12.1 - Condición hematológica crónica: SI____ NO____ Especificar: _____

V.12.2 - Prematuridad: SI____ NO____ Semanas de gestación _____

V.12.3 - Inmunodeficiencia: SI____ NO____ Especificar: _____

V.12.4 - Enfermedad reactiva de las vías aéreas (asma): SI____ NO____

V.12.5 - Uso de esteroides sistémicos: SI____ NO____ Dosis:_____ Tiempo_____

V.12.6 - Enfermedad neoplásica crónica: SI____NO__ Especificar: _____

V.12.7 - Condición pulmonar crónica: SI____NO__ Especificar: _____

V.12.8 - Condición renal crónica: SI____NO__ Especificar: _____

V.12.9 - Condición cardíaca crónica: SI ___NO___ Especificar: _____

V.12.10 - Condición hepática crónica: SI ___NO___ Especificar: _____

V.12.11 - Diabetes: SI ___NO___

V.12.12 - Déficit nutricional: SI ___NO___ Especificar: _____

Peso _____ Talla _____ CBI _____ P/E _____ P/T _____ T/E _____ CBI/E _____

VI Efectos adversos

VI.1- Relacionados con la toma de la muestra:

VI.1.1-¿Ha experimentado el paciente algún evento adverso relacionado con el protocolo, dentro de los 30 minutos posteriores a la toma de la muestra por hisopado nasofaríngeo, saliva o toma de muestra de sangre? SI ___NO___

Si la respuesta es afirmativa, especificar tipo: _____

VI.1.2-Tiempo de duración: _____

VI.1.3-Toma posterior a la cual se presenta: primera____ segunda____ tercera____
cuarta_____

VI.2- Relacionados con la vacuna:

VI.2.1-Reacción local en el sitio de inyección: SI ___ NO___ Si la respuesta es afirmativa especificar tipo: Eritema_____ Induración_____ Dolor_____ Otro_____

VI.2.2-Reacción sistémica: SI ___NO___ Si la respuesta es afirmativa especificar tipo:

Fiebre: SI ___ NO___ Si la respuesta es afirmativa especificar: Cuantificación:_____°C

Duración de la fiebre_____ **Utilización de antipiréticos:** SI ___ NO___

Cefalea_____ Astenia_____ Mialgias_____ Exantemas_____ Artralgias_____

Artritis_____ Trombocitopenia_____ Adenitis_____ Convulsiones_____

Otro: _____

VI.2.3- Tiempo de duración: _____

VI.2.4-Dosis posterior en la cual se presenta: primera _____ segunda _____ tercera_____

VI.3 - Severidad:

VI.3.1-¿Requiere hospitalización o prolonga una hospitalización previa? SI ___NO___

VI.3.2-¿Resulta en discapacidad o incapacidad persistente o significativa? SI ___NO___

VI.3.3-¿Pone en riesgo la vida? SI ___NO___

VI.4 - Resolución: Se resolvió_____ Persiste _____ Muerte _____

VI.4.1-Acción que se tomo: _____

VIII Esquema de vacunación y toma de muestra

VIII.1-Número de dosis a administrar según edad:

3 Dosis	2 Dosis	1 Dosis	Seguimiento

VIII.2-Fecha de vacunación y toma de muestras:

Fecha: --/--/200_ --/--/200_ --/--/200_ --/--/200_

Muestras tomadas:

Suero () () () ()

Saliva () () () ()

Hisopado () () () ()

Observaciones: _____

Se colocó durante alguna visita vacunas diferentes a la PCV7: Si___ No___

Especifique:

Primera visita _____

Segunda visita _____

Tercera visita _____

Cuarta visita _____

IX Datos del llenado de la planilla**IX.1-Nombre del entrevistador:** _____**IX.2-Fecha de la primera entrevista:** ___/___/___**IX.3-Nombre del recolector de la muestra:**

Primera _____ Segunda _____

Tercera _____ Cuarta _____

Anexo IV

Indicación de vacuna neumocócica heptavalente en niños de alto riesgo de acuerdo al grupo etario y dosis previas recibidas.

EDAD (meses)	DOSIS PREVIA (VCN7V)	INDICACIÓN
2-6	Ninguna	3 dosis intervalo de 2 meses (mínimo 4 semanas) y 1 dosis a los 12-15 meses
7-11	Ninguna	2 dosis intervalo de 2 meses (mínimo 4 semanas) y 1 dosis a los 12-15 meses (intervalo mínimo 8 semanas)
12-23	Ninguna	2 dosis intervalo de 2 meses
24-59	Ninguna	2 dosis de VCN7V intervalo 8 semanas Indicación de VNP23
24-59	1	2 dosis de VCN7V intervalo 8 semanas Indicación de VNP23
24-59	1-3	1 dosis VCN7V Indicación de VNP23
24-59	4	Ninguna VCN7V Indicación de VNP23