



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
"FEDERICO GOMEZ"

EFECTO DE LA VACUNA HEPTAVALENTE
CONJUGADA DE NEUMOCOCO EN PORTADORES
NASOFARINGEOS DE *S. PNEUMONIAE* EN UNA
COMUNIDAD RURAL DE MÉXICO, DOS AÑOS
DESPUÉS DE SU APLICACIÓN DURANTE EL
SEGUNDO AÑO DE VIDA. "PARTICIPACIÓN DEL
EFECTO DE REBAÑO"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN INFECTOLOGIA
P R E S E N T A
DR. RODOLFO NORBERTO JIMÉNEZ JUAREZ

ASESOR DE TESIS:
DR. FELIPE AGUILAR ITUARTE

CO-ASESORES DE TESIS:
DR. DEMÓSTENES GOMEZ BARRETO
DRA. LUZ ELENA ESPINOSA DE LOS MONTEROS



SEPTIEMBRE 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso


DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO.**

FEDERICO GÓMEZ.


SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

Efecto de la vacuna Heptavalente conjugada de Neumococo en portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae* en una comunidad rural de México, dos años después de la aplicación durante el segundo año de vida. "Participación del efecto de rebaño"

Tesis que para obtener el Diploma de Especialista en Infectología Presenta:

Dr. Rodolfo Norberto Jiménez Juárez.



SUBDIRECCION DE
ENSEÑANZA

Asesor de tesis: Dr. Felipe Aguilar Ituarte.

Co-asesores de tesis: Dr. Demóstenes Gómez Barreto.

Dra. Luz Elena Espinosa de los Monteros.

2004

Septiembre de 2004.

Agradecimientos:

**A Dios nuestro Señor por que El me ha permitido llegar
y me ayudara a servir en mi profesión que con El elegí.**

**A mi Esposa Rocío, sin tí no habría llegado,
Gracias por tu comprensión y apoyo.**

**A mis hijos que han soportado tardes sin jugar
conmigo por estar trabajando en el Hospital y
que aun así al llegar a casa son la luz de mi día.
Gracias Rodrigo, Emilio y Diego su sonrisa siempre me alentó.**

**A mis Padres por todo el apoyo que siempre
me han dado y por la educación con su ejemplo.
Ojala algún día sea como ustedes.**

**A mi Tía Manuela por su paciencia y dedicación
Cuando en algún momento me cuidó.**

**A los niños del Hospital Infantil de México
Ya que son lo mejor que le queda a
Nuestro Querido Hospital**

Efecto de la vacuna Heptavalente conjugada de Neumococo en portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae* en una comunidad rural de México, dos años después de la aplicación durante el segundo año de vida. “Participación del efecto de rebaño”

Dr. Rodolfo Norberto Jiménez Juárez (1) , Dr. Demostenes Gómez Barreto (1) , Dra. Luz Elena Espinosa De Los Monteros(2) , Dr. Felipe Aguilar Ituarte (1)

1.- Departamento de Infectología Hospital Infantil de México “Federico Gómez”

2.- Laboratorio de Enfermedades Estreptococcicas

INTRODUCCIÓN

En la actualidad las infecciones de vías respiratorias se encuentran entre las primeras causas de morbilidad, principalmente entre los lactantes y niños de las ciudades industriales, en los grupos socioeconómicos bajos y en los países en desarrollo. Entre los microorganismos causantes de estos padecimientos, se encuentra el *Streptococcus pneumoniae*, situándose como uno de los más importantes patógenos bacterianos de enfermedades infecciosas en niños en México y en el mundo. Es el responsable principal de neumonía, bacteriemia y otitis media bacteriana y se ubica como la principal causa de meningitis bacteriana en niños menores de cinco años. ⁽⁴⁾

Aproximadamente cuatro millones de niños mueren anualmente en todo el mundo por neumonía y un millón de éstas muertes puede atribuirse al *S. pneumoniae*. En México, a pesar de que se han realizado esfuerzos importantes en las acciones de prevención, control y tratamiento, la neumonía persiste aún como la primera causa de muerte en los menores de cinco años.

Con el paso del tiempo, las infecciones por *S. pneumoniae* se han incrementado. En los últimos veinte años se ha producido un cambio en la epidemiología de las

infecciones por este agente, con un incremento en la incidencia así como la emergencia de cepas resistentes a penicilina – antibiótico de elección- así como a cefalosporinas de tercera generación, cloramfenicol y cotrimoxazol, entre otros. ⁽⁶⁾

Como consecuencia del incremento de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a estos antibióticos, existe un número limitado de alternativas disponibles para el tratamiento eficaz de estas infecciones.

El desarrollo de vacunas conjugadas contra *S. pneumoniae* constituye un importante avance en la prevención de estos padecimiento. En este sentido la vacuna PNCRM7 (Prevenar®) ha demostrado ser altamente efectiva en niños menores de dos años².

Diversos ensayos clínicos, han mostrado que esta vacuna que tiene una efectividad del 95% para prevenir enfermedad neumocócica invasora debida a serotipos vacunales, así como cierta eficacia contra la enfermedad no invasora. Esta capacidad ha representado una oportunidad para reducir las tasas de mortalidad por enfermedad neumocócica junto con el uso prudente de antibióticos en los niños pequeños¹⁰.

ANTECEDENTES

Las infecciones causadas por neumococo, son condicionantes importantes de morbilidad y mortalidad particularmente en lactantes y niños menores de dos años de edad. La enfermedad neumocócica puede manifestarse en diversas formas y según la localización anatómica de la infección se clasifica como invasora y no invasora. La primera implica generalmente meningitis, neumonía con bacteriemia y bacteriemia. Esta ultima con un gran impacto en él número de secuelas (sepsis, meningitis, osteomielitis, artritis séptica, celulitis y muerte). Para la no invasora se consideran a la otitis media y sinusitis (ésta última principalmente en niños de mayor edad)⁶.

Aproximadamente, cuatro millones de niños a nivel mundial mueren por neumonía y se calcula que el *S. pneumoniae* es responsable de un millón de esas muertes. Según datos aportados por el BID (Banco Interamericano de Desarrollo) en Latinoamérica se producen cada año 9,000 casos de meningitis bacteriana aguda, lo que ocasiona un 10% de mortalidad y 30% de secuelas⁹.

En México, las enfermedades respiratorias agudas, continúan siendo uno de los principales problemas de salud pública y un reto para lograr su disminución. Para el año 2000, se notificaron a la Dirección General de Epidemiología 29'318,354 casos de infecciones de vías respiratorias, de las cuales 1'528,442 (33.3%) corresponden a niños menores de cinco años de edad, quienes presentan entre cuatro y ocho episodios de infección respiratoria aguda por año. Se ha reportado que este número varía en función del lugar donde residen los niños; de este modo se tiene que los del área rural presentan de uno a tres episodios mientras que los del área urbana de seis a once. Asimismo, las infecciones respiratorias agudas son las responsables de casi una tercera parte (29.9%) de la demanda de consulta externa en los servicios de salud y 40% de las hospitalizaciones pediátricas.

Por otra parte, la tasa de mortalidad por infecciones respiratorias agudas en los menores de cinco años ha mostrado una tendencia a disminuir; de 112.9 por 100,000 habitantes en 1990 a 44.7 por 100,000 en el año 2000, lo que se traduce en una reducción del 60%. En cuanto a la mortalidad por neumonía en los menores de cinco años en México, también presenta una importante disminución en la tasa de mortalidad (54%) lo cual es el reflejo de diversas acciones de prevención, control y promoción de las medidas de prevención de estas infecciones respiratorias, sobre todo en los meses invernales, así como de una oportuna atención de estos padecimientos. (DGE, 2001)

La fisiopatogenia de las enfermedades invasoras por *S. pneumoniae* son precedidas en forma común por la colonización nasofaríngea, siendo éste un evento habitual, ya que dicha bacteria no se expresa desde el punto de vista

clínico y puede ser un patógeno potencial para el huésped, a quién se le ha denominado con el termino de "portador de infección neumocócica"⁶.

La colonización nasofaríngea por *S. pneumoniae* es más común en niños que en adultos, tomando en cuenta que los menores son los que juegan un papel importante en la diseminación de la bacteria; siendo esta inversamente proporcional a la edad del paciente. Los patrones de colonización en niños sanos se han reportado del 10 al 50% y los más altos porcentajes provienen de los que acuden a guarderías⁶.

La creciente resistencia de *S. pneumoniae* a los antibióticos tradicionalmente utilizados para las enfermedades neumocócicas como penicilina, cefalosporinas y macrólidos señala la necesidad de medidas de prevención eficaces. Las cepas de *S. pneumoniae* resistentes son un problema creciente y se han convertido incluso en un problema mundial. Desde 1965 cuando se identificaron por primera vez en Estados Unidos cepas resistentes, el número de estas se ha incrementado en forma notable, por ejemplo en 1977 en Australia, se reportaban cepas con alto nivel de resistencia a penicilina y múltiples antibióticos. A partir de entonces, países como Sudáfrica, España, Hungría, Checoslovaquia y en 1998 algunos países de América latina (Argentina, Brasil, Colombia, Chile Uruguay y México) empezaron a reportar un número cada vez mayor de resistencia a penicilina.

A través de la Red SIREVA-OPS (Sistema Regional de Vacunas), se estudiaron 1,679 aislamientos de cepas provenientes de sitios estériles (Sangre y Líquido cefalorraquídeo) en niños menores de cinco años de edad, en donde se reportó que una cuarta parte (24.9%) de las cepas aisladas tenían baja susceptibilidad a la penicilina. El 16.7% de las cepas tenían resistencia intermedia y 8.3% tuvieron alta resistencia. En México fue donde se reportaron las frecuencias más altas de resistencia en cepas de neumococo causantes de enfermedad invasora en población pediátrica (1)

Algunos estudios sugieren que existen dos mecanismos fundamentales para el incremento global de la resistencia de *S. pneumoniae* a los antibióticos, el primero es la importación y diseminación de clonas resistentes que aventajan a cepas locales en un entorno de frecuente e inapropiada utilización de antibióticos y el segundo es la selección in vivo de cepas nativas que modifican su estructura a las proteínas fijadoras a la penicilina (PBP's)¹.

La preocupación actual sobre la epidemiología y patogénesis de la enfermedad causada por *S. pneumoniae* se basa en el incremento importante de las cepas resistentes y al patrón cambiante de virulencia y susceptibilidad antibiótica⁶. Esto traduce un problema para el clínico, en cuanto a la elección del tratamiento farmacológico para una infección invasora que pone en riesgo la vida del paciente, o bien para una enfermedad no invasora pero que ante un manejo inadecuado puede progresar a una enfermedad invasora.

Colonización nasofaríngea.

La patogenicidad de *S. pneumoniae* está directamente relacionada con el polisacárido capsular que le confiere protección en contra de mecanismos naturales de defensa contra las enfermedades como lo son la fagocitosis. Se han descrito hasta el momento actual 90 serotipos divididos en 40 serogrupos⁹.

La colonización por *S. pneumoniae* requiere de adherencia al epitelio respiratorio. La colonización asintomática involucra la unión del *S. pneumoniae* a los carbohidratos que están en la superficie celular (N-acetil-glucosamina) de un epitelio no inflamado. La adherencia a estos azúcares es mediado por proteínas de superficie asociadas a la pared celular, como la proteína de adherencia A del neumococo. Además, las proteínas de la pared celular del neumococo contribuyen a la interacción fisicoquímica no específica con el epitelio respiratorio. En general la colonización no progresa a una enfermedad sintomática. El paso de una colonización a una enfermedad invasora requiere de la generación local de mediadores inflamatorios como interleucina-1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral,

como la que se puede generar con una infección viral intercurrente. Esta cascada inflamatoria cambia el tipo y número de receptores del epitelio respiratorio y células endoteliales. La colina de la pared celular del neumococo tiene una afinidad incrementada para uno de estos receptores, el receptor del factor activador de plaquetas. La unión a este receptor induce la internalización del neumococo y promueve la migración transcelular a través del epitelio respiratorio y endotelio vascular, resultando con esto en invasión de bacterias viables al torrente sanguíneo y posterior a la bacteriemia pudiendo producir cualesquiera de las enfermedades invasoras^{13,14}. Además una proteína de superficie celular, la proteína A fijadora de colina (CbpA) incrementa la afinidad por el ácido sialico inmóvil y lacto-N-neotetraose en células humanas activadas por citocinas¹⁵. CbpA interactúa directamente con el receptor polimérico de inmunoglobulinas, aumentando la migración a través de las mucosas.

La colonización nasofaríngea en niños se ha estudiado de forma amplia, desde la década de 1980 se ha descrito la colonización por *S. pneumoniae* en los niños, la dinámica de la colonización nasofaríngea por *S. pneumoniae* es compleja e intervienen factores como edad, raza, el nivel socioeconómico, la alimentación al seno materno, la temporada del año, tabaquismo pasivo, la exposición a otros niños como por ejemplo al estar en guarderías, infecciones de vías respiratorias altas concurrentes, enfermedades de base que den inmunosupresión como infección por VIH y anemia de células falciformes, alergias, tratamiento antibiótico previo y el uso de inmunizaciones.

La media de edad para la adquisición de *S. pneumoniae* es de 6 meses con rangos de 1-30 meses^{20,21,22,23} al año de edad 50-100% están colonizados por algún patógeno respiratorio, ya sea *S. pneumoniae*, *H. influenzae* o *M. catarrhalis*.

El porcentaje de colonización es más elevada en lactantes y pre-escolares que en niños mayores y va disminuyendo con la edad. En países de vías de desarrollo, debido a que hay condiciones precarias de vida se favorece la colonización a

edades menores, esto lo observo Coles et al²³ en donde en la India encontró que el 54% de los niños de 2 meses de edad estaban colonizados por *S. pneumoniae* y este porcentaje se elevó a la edad de 4 y 6 meses encontrando porcentajes de colonización de 64.1% y 70.2%. Además, en este estudio se encontró una relación estrecha entre el bajo nivel de estudio de los padres y la colonización nasofaríngea.

Algunos estudios han correlacionado un mayor porcentaje de colonización nasofaríngea y la temporada del año encontrando mayores porcentajes de colonización a medio invierno²⁴, sin embargo, es una variable que no en todos los estudios se le ha encontrado una participación importante en la colonización nasofaríngea.

El humo del cigarro puede inflamar y lesionar la mucosa nasofaríngea, este es uno de los postulados por el cuál teóricamente los niños expuestos a humo de cigarro pueden estar colonizados por patógenos respiratorios^{23,25}, sin embargo aunque Cole y colaboradores si encontraron relación entre la colonización y exposición a humo de cigarro, el tema permanece controversial.

La convivencia con más niños es uno de los factores mejor estudiados para colonización nasofaríngea, esto se ha observado en guarderías en donde diversos autores han observado una mayor colonización en niños que van a guardería comparado con niños que no asisten a ella así como aquellos que viven en comunidades cerradas como los orfanatos^{20, 22}.

En México referente a la colonización nasofaríngea, se tiene un estudio realizado en la guardería del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" en donde se siguió una cohorte de 53 pacientes en un periodo de dos años (septiembre de 1997 a septiembre de 1999) encontrando un porcentaje de colonización de 84.9%. De los 178 aislamientos, 84% de los serotipos reportados estaban incluidos en la vacuna conjugada, PNCRM7; Prevenar ®⁶. La media de edad de adquisición fue

de 5 meses. Se encontró 49% de las cepas con sensibilidad disminuida a la penicilina y 11% resistentes, para eritromicina fue el 43% de resistencia y el factor de riesgo para tener cepas resistentes antibióticos fue el haber recibido 3 tratamientos con antibióticos en los últimos 2 meses.

Inmunización.

La inmunidad contra *S. pneumoniae* es mediada por anticuerpos dirigidos a los polisacáridos capsulares específicos, por lo tanto se requiere en condiciones ideales una vacuna que contenga la totalidad de los serotipos prevalentes de una región geográfica específica. El desarrollo de las vacunas contra *S. pneumoniae* se remonta a principios del siglo pasado pero la gran susceptibilidad a los antibióticos convencionales, de alguna manera desalentó el desarrollo de las mismas. Desde 1984 se cuenta con una vacuna que contiene 23 de los posibles 90 polisacáridos capsulares. Esta vacuna tiene el inconveniente de ser poco inmunogénica además de producir una respuesta independiente de células T que en los menores de 2 años se encuentra poco desarrollada además de no inducir una inmunidad de memoria.

La efectividad de las vacunas conjugadas que se formulan para prevenir las enfermedades causadas por *S. pneumoniae* depende parcialmente de la efectividad de los serotipos incluidos en estas. En el momento actual la única vacuna autorizada para su uso tanto en los Estados Unidos de Norteamérica como en México es la vacuna Heptavalente conjugada (PNCRM7;Prevenar®) que contiene 7 serotipos (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F) misma que ha demostrado su eficacia en prevenir 82% de las infecciones invasivas por *S. pneumoniae* en niños menores de 2 años contra los serotipos incluidos en la vacuna⁴. En Estados Unidos de Norteamérica, el porcentaje de cobertura contra las enfermedades invasoras es de 86% para bacteriemia, 83% para meningitis y para enfermedades no invasoras como otitis media, en porcentajes del 6 al 27%⁹.

La experiencia en nuestro país es aún limitada sin embargo, estudios realizados en el Hospital Infantil de México sugieren que el 50% de las cepas invasoras causantes de las meningitis se encuentran contenidas en la vacuna y que de acuerdo al potencial de cruce inmunológico de dichos serotipos presentes en la vacuna sería de un 66%⁶.

Prevenar[®] es una vacuna conjugada de neumococo 7-valente en solución estéril de sacáridos de los antígenos capsulares del *Streptococcus pneumoniae* serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F conjugados individualmente a la proteína diftérica CRM₁₉₇. Los polisacáridos individuales se preparan a partir de la purificación del caldo de cultivo de cada serotipo. Los sacáridos se conjugan directamente a la proteína acarreadora CRM₁₉₇ mediante aminación reducida. La proteína CRM₁₉₇ es una variante no tóxica de la toxina diftérica aislada de cultivos de *Corynebacterium diphtheriae* cepa C7 (β197) pPx350⁸.

Prevenar[®] está indicado para la inmunización activa de lactantes y niños de 6 semanas a 9 años para prevenir la enfermedad invasora (sistema nervioso central o torrente sanguíneo), neumonía y otitis media causada por *S. pneumoniae* serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F⁸.

Los niños que presentan alteraciones en la respuesta inmunológica debido ya sea a él uso de terapia inmunosupresora (incluyendo radioterapia, corticoesteroides, antimetabolitos, agentes alquilantes y agentes citotóxicos), defecto genético, infección por VIH u otras causas, pueden presentar una respuesta de anticuerpos disminuida a la inmunización activa. Aunque se presenta cierta respuesta de anticuerpos a la toxina diftérica, la inmunización con Prevenar[®] no sustituye a la inmunización rutinaria contra la difteria⁸.

El uso de vacunas conjugadas de neumococo no reemplaza el uso de la vacuna 23-valente de polisacárido de neumococo, en niños de 24 meses de edad o mayores con enfermedad de células falciformes, postesplenectomía, infección por

VIH, enfermedad crónica o que están inmunocomprometidos, colocándolos en un grupo de alto riesgo para desarrollar enfermedad invasora debido a *S. pneumoniae*.

La seguridad y efectividad de Prevenar® en niños menores de 6 semanas de edad o mayores de 10 años, no ha sido establecidas, así mismo, las respuestas inmunológicas generadas en lactantes nacidos prematuramente no han sido estudiadas. No se recomienda para su uso en poblaciones adultas y no debe ser empleada como sustituto de la vacuna de polisacáridos de neumococo en poblaciones geriátricas. La vacuna no debe mezclarse con otras vacunas o productos en la misma jeringa⁸.

Entre sus reacciones secundarias y adversas conocidas, están: reacciones de hipersensibilidad local y cambio en la coloración de la piel, que generalmente se autolimitan y no requieren de tratamiento. Como otras vacunas que contienen aluminio, ocasionalmente podrá ser palpable un nódulo en el sitio de inyección por varias semanas. Es muy común observar eritema en el sitio de aplicación, inflamación, induración en el sitio de inyección, dolor que puede interferir con el movimiento. A nivel sistémico puede provocar fiebre (hasta de 39°C), disminución del apetito, mareo, sueño intranquilo, convulsiones, episodios de hipotonía e hipo reactividad, irritabilidad, rash o urticaria⁸.

La vacuna de polisacáridos neumocócicos 23-valente disponible (Pnu-Imune 23® Wyeth Lederle) que está compuesta de los 23 polisacáridos capsulares purificados de *S. pneumoniae* que causan el 90% de las enfermedades invasivas en adultos y no tiene efectos en el transporte nasofaríngeo⁸.

Actualmente se esta considerando a la colonización nasofaringea como el primer eslabón de la fisiopatología de la enfermedad invasora por *S. pneumoniae*, por lo tanto una vacuna que prevenga la colonización nasofaringea podría ayudar a disminuir la enfermedad invasora y no invasora. Además el conocimiento de los

mecanismos básicos de colonización así como las proteínas involucradas en esta son adelantos importantes ya que brindan la oportunidad de tener intervenciones a estos niveles, con lo cual las proteínas involucradas en la adherencia son consideradas para proyectos de investigación para desarrollo de vacunas que prevengan la colonización nasofaringea.

Con respecto a la evaluación del efecto que tiene la inmunización activa con vacunas conjugadas se tiene pocos estudios^{12,16,17,18,19} uno de los mejor llevados es el que realizó Mbelle en Sudáfrica con la vacuna nueve valente, en donde demostró una disminución de los portadores asintomáticos en los pacientes vacunados contra controles del 36% al 18% en los serotipos incluidos en la vacuna y disminución de cepas resistentes a la penicilina del 41 al 21%. Sin embargo se observo un incremento en los serotipos no incluidos en la vacuna que colonizaron la orofaringe del 25% al 36%. En este estudio no se evaluó la eficacia de la vacuna para disminución de enfermedad invasora y en caso de presentarla si hubo substitución de serotipos involucrados en la enfermedad invasora. El otro trabajo importante en este tema desarrollado por Lakshman¹⁶, quien obtuvo un grupo de niños que había recibido la vacuna conjugada Heptavalente 3 dosis antes del año de edad y un refuerzo con vacuna de polisacarido 23-valente a los 13 meses, el estudio se realizó cuando estos niños tenían en promedio 33 meses de edad y se obtuvo un grupo control que no había recibido la vacuna, las muestras se tomaron una en verano y otra en invierno. En este estudio no se observaron diferencias entre los grupos, se observo que en ambos grupos aumento el porcentaje de portadores nasofaringeos en los meses de invierno y tampoco se observa substitución de serotipos.

Respecto al efecto de la vacuna s se ha publicado que la aplicación universal de la vacuna Heptavalente a menores de 2 años también disminuye la enfermedad invasora en otros grupos etéreos, como son los adultos y adultos mayores. Estas observaciones han hecho que se proponga un efecto de rebaño por parte de la vacuna al evitar la transmisión horizontal de cepas invasoras de niños a adultos. El

efecto rebaño no ha sido estudiado en la colonización nasofaríngea, y lo que se puede esperar es que en niños no inmunizados el porcentaje de colonización sea el mismo que en un grupo vacunado.

PREGUNTA DE INVESTIGACION.

¿Qué efecto tiene la vacuna conjugada Heptavalente conjugada de neumococo sobre la colonización nasofaríngea de *S. pneumoniae* en niños menores de 1 a 3 años?

JUSTIFICACIÓN.

Actualmente la enfermedad invasora por *S. pneumoniae* es una de las principales causas de morbimortalidad entre los niños menores de 2 años en especial, se considera a la colonización nasofaríngea como el primer paso para la enfermedad invasora, así también como para patología no invasora (otitis media, sinusitis).

Esta colonización por un patógeno respiratorio tan importante condiciona en algunos casos solo ser portador asintomático pero en otras ocasiones puede ser el inicio de una enfermedad invasora. Además no solo esta el riesgo de diseminación en el huésped, también esta la posibilidad de diseminación horizontal de clonas de *S. pneumoniae* que en caso de tener resistencia a antibióticos se convierte en un problema de salud pública como el que estamos viviendo actualmente.

Con base en lo anterior, es claro que se requieren nuevas estrategias para prevenir la infección y el estado de portador de *S. pneumoniae*, además de la resistencia de esta bacteria a los antibióticos. La vacunación contra *S. pneumoniae* es una estrategia recomendable, ya que puede prevenir la infección y

disminuir el problema de la resistencia a los antibióticos. Una vacuna eficaz contra *S. pneumoniae* que proteja tanto a niños como a adultos tendría un impacto significativo sobre la morbilidad y mortalidad reduciría al mínimo las alternativas limitadas de tratamiento (particularmente en situaciones de emergencia en infecciones por cepas resistentes a los antibióticos), así como el potencial desarrollo de un mayor número de cepas resistentes a los antibióticos⁸.

En la vacuna Heptavalente no se tiene un estudio en México que evalúe su efecto en la colonización orofaríngea de niños vacunados, tanto en su incidencia de colonización, así como la colonización con cepas resistentes a antibióticos. Por lo que nuestro estudio es necesario para saber la relación de la vacunación con el estado de portador, conocer sus bondades y/o conocer sus limitaciones de la vacunación para este efecto.

HIPÓTESIS.

- 1.-La vacuna Heptavalente disminuye el porcentaje de colonización nasofaríngea por serotipos incluidos en la vacuna.
- 2.-La vacuna Heptavalente no reduce el porcentaje de colonización nasofaríngea por todos los serotipos.
- 3.-La vacuna Heptavalente condiciona sustitución de serotipos en la colonización nasofaríngea en niños vacunados.
- 4.-La vacuna Heptavalente disminuye el porcentaje de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto que la vacuna Heptavalente conjugada de neumococo (Prevenar®) tiene sobre el estado de portador de *S. pneumoniae* en niños menores de dos años.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Calcular la incidencia de la colonización nasofaringea de *S. pneumoniae* en una muestra de la población inmunizada con la vacuna Heptavalente conjugada de neumococo (Prevenar®).
2. Evaluar la eficacia que tiene la vacunación con Prevenar® en la colonización nasofaringea por *S. pneumoniae*.
3. Evaluar la relación de vacunación con Prevenar® y colonización de serotipos incluidos en la vacuna, relacionados con la vacuna y no relacionados con la vacuna.
4. Identificar los serotipos de *S. pneumoniae* que colonizan la nasofaringe de los niños inmunizados con Prevenar®.
5. Identificar la sensibilidad a los antibióticos de las cepas que colonizan la nasofaringe de los niños vacunados con Prevenar®.
6. Evaluar la relación que hay entre la vacunación con Prevenar® y la resistencia de *S. pneumoniae* a antibióticos.

METODOLOGÍA

Se trata de un estudio transversal, analítico, observacional.

El estudio se llevo a cabo en el Municipio de Almoloya, Hidalgo, la cuál es una comunidad rural. Este estudio se hicieron 2 observaciones transversales la primera en mayo de 2003 y la segunda en julio de 2004. Se reclutaron dos grupos de niños, el primer grupo fueron niños sanos que habían recibido dos a tres dosis de vacuna Heptavalente conjugada de neumococo, (Prevenar® Wyeth-Lederle que contiene los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F conjugada con la proteína CRM197) a partir de febrero de 2002, como parte de un estudio previo de una cohorte observacional (185 niños, los captados antes de los 6 meses de edad recibieron 3 dosis con intervalo de 6 semanas y un refuerzo entre 12-15 meses y los niños captados entre los 6 y 12 meses recibieron 2 dosis con espacio de 6 semanas y el refuerzo entre los 12 y 15 meses de edad). El segundo grupo lo conformaron niños de 1 a 3 años de edad que no participaron en el estudio previo,

debido a no haber estado viviendo en el municipio o haber nacido en el intervalo entre estos dos estudios y no habían recibido ninguna dosis de vacuna contra *S. pneumoniae*. Se eligió la edad de 1 a 3 años para tener un grupo de edad similar al que se tenía en la observación de mayo de 2003. El objetivo de esto es que se tuvieran dos grupos similares en características geográficas, temporada del año y edad, para comparar los porcentajes de colonización de *S. pneumoniae* a una misma edad, ya que en el estudio previo no se reclutó a una cohorte de niños no vacunados, para poder hacer un análisis comparativo.

Criterios de inclusión:

1. Todos los niños que recibieron cuando menos 2 dosis de vacuna Heptavalente conjugada contra neumococo.
2. Madre/Padre/Tutor que sepa leer y escribir.
3. Toma de exudado nasofaríngeo.

Criterios de exclusión:

1. Presencia de alguna malformación congénita externa evidente.
2. Alergia conocida a cualquiera de los componentes de las vacunas.
3. Vivienda con problemas de accesibilidad geográfica importantes hacia Almoloya.

VARIABLES DE ESTUDIO.

INDEPENDIENTE: Vacunación con Prevenar®

DEPENDIENTES:

1. Colonización por *S. pneumoniae*.
2. Colonización por los serotipos de *S. pneumoniae* incluidos en la vacuna Heptavalente.
3. Colonización por los serotipos de *S. pneumoniae* relacionados con la vacuna Heptavalente.

4. Colonización por los serotipos de *S. pneumoniae*, no relacionados ni incluidos en la vacuna.
5. Resistencia a antibióticos de las cepas aisladas.

Microbiología:

A cada uno de los participantes se les tomó una muestra de exudado faríngeo para determinar la presencia de *S. pneumoniae* en dicha zona anatómica. El periodo de recolección de las muestras fueron mayo 2003, para el grupo de niños vacunados y julio de 2004.

Para la toma del Exudado Nasofaríngeo, los tubos de Stuart (transporte) estuvieron a disposición en el sitio de aplicación de la vacuna, a temperatura de 4 grados (2.- 8 grados Celsius). Se colocaron los tubos perfectamente rotulados (se anotó el nombre completo del niño, folio, fecha) y se entregaron diariamente a un responsable del Hospital Infantil, mismos que las trasladaron al laboratorio de bacteriología de dicho hospital ⁷ en un lapso no mayor de 6 hrs. Las muestras se procesaron en el Laboratorio de Bacteriología Intestinal y se sembraron en agar sangre y agar chocolate, se incubaron a 34-35oC en una atmósfera de 17% de CO₂ por 24 a 48 hrs. Posteriormente se seleccionaron las colonias alfa hemolíticas con morfología compatible con *S. pneumoniae* y se aplicó la prueba de susceptibilidad a la optoquina y solubilidad en bilis para la identificación de *S. pneumoniae*. Las cepas identificadas como *S. pneumoniae* fueron sometidas a aglutinación por suero específico.

Las cepas aisladas fueron sometidas a pruebas de sensibilidad a oxacilina, por el método de difusión en disco y realización de concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) en placa a penicilina; la interpretación de las pruebas de susceptibilidad se realizaron de acuerdo a las tablas del NCCLS.

Análisis estadístico.

Definición de exposición: Vacunación con Prevenar®.

Se utilizaron medidas de tendencia central, y para la comparación de los dos grupos se utilizó la prueba de la Xi cuadrada, se utilizó el programa de informática Epi Info 97. Se considerara significativa una $p \leq 0.01$

Definiciones operacionales.

Edad: se expresara en meses.

Niño vacunado: se considerara a aquella que cuando menos tenga 3 dosis de vacuna conjugada PNCRM7.

Serotipo incluido en la vacuna (SIV): Se refiere a aquellos que contiene la vacuna conjugada 7-valente 4,6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F.

Serotipo relacionado a la vacuna (SRV): Se refiere a los serotipos que pueden tener protección cruzada con la vacuna 7-valente. (grupos 4,6,9,14,18,19,23)

Serotipo no incluido en la vacuna (SNIV): Para fines de este estudio se define a aquellos que no están incluidos en la vacuna antes descrito, ni tiene el potencial de inmunidad cruzada.

Serotipo resistente: Para fines de este estudio se tomara como resistente todo aquel que tenga una MIC $\geq 0.12 \mu\text{cg/ml}$.

Resultados.

Se reclutaron dos grupos, el formado en julio de 2004, incluyó toda la población de Almoloya Hidalgo de 1 a 3 años que cumpliera con los criterios de inclusión en total 128 niños con una media de edad de 21.4 meses. El grupo de niños vacunados se tomó del muestreo que se hizo en mayo de 2003 como parte de una cohorte observacional, en esa ocasión se habían reunido 134 niños los cuales habían recibido 3-4 dosis de vacuna Heptavalente durante el año de 2002 y hasta mayo de 2003, la media de edad fue de 20.3 meses al momento de tomar los exudados nasofaríngeos, todos los niños han vivido en Almoloya, Hidalgo, son mestizos, de medio socioeconómico bajo.

Colonización.

Del grupo de niños vacunados se encontraron 47 portadores asintomáticos, con un porcentaje de 35.07%. De los 47 cultivos positivos hubo 13 cepas con serotipo incluido en la vacuna (27.65%), 4 relacionados con la vacuna (8.51%) y 30 no relacionados ni incluidos en la vacuna (63.82%). Los serotipos más frecuentemente encontrados fueron 19F (8), 3 (4), 6A, 15B, 15C, 23F y 34 todos ellos con tres aislamientos cada uno. En este grupo son muy heterogéneos los serotipos que colonizaron la nasofaringe de los niños. Siendo los serotipos incluidos en la vacuna 6B (1), 14 (1), 19F(8), y 23F(3).

Figura 1 :

Serotipos de *S. pneumoniae*, encontrados como colonizantes nasofaríngeos de niños vacunados con Prevenar, en Almoloya, Hidalgo. Mayo de 2003.

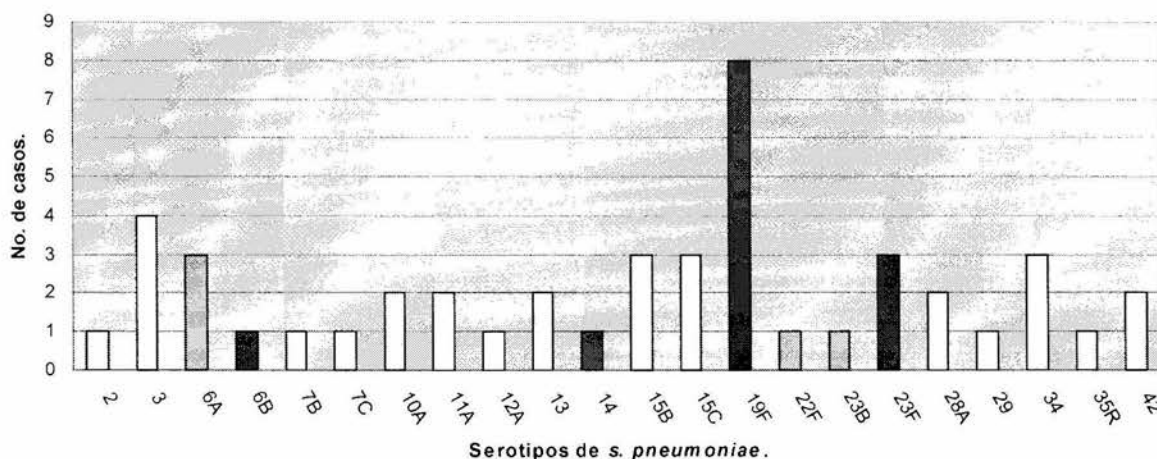
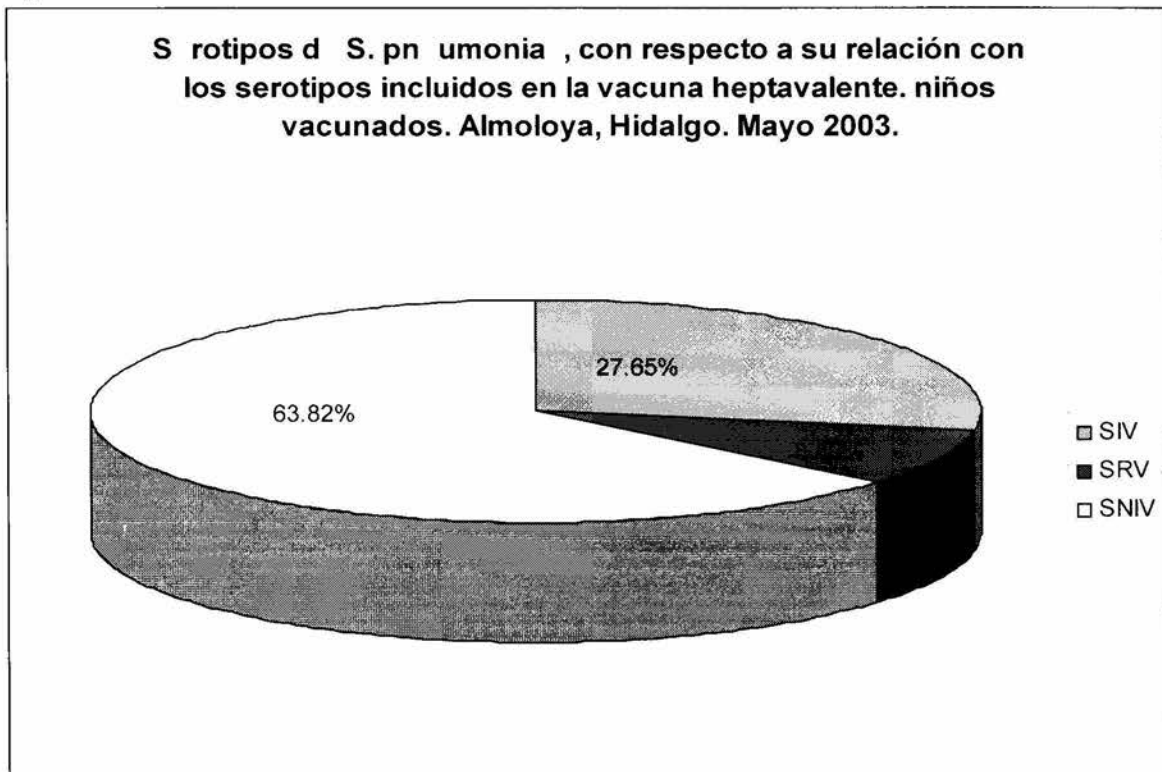


Figura 2.



Del grupo de niños no vacunados se encontraron 44 portadores asintomáticos dando un porcentaje de 34.37%. De los 44 cultivos positivos se encontraron 24 serotipos incluidos en la vacuna (54.54%), 6 serotipos relacionados con la vacuna (13.63%) y 14 serotipos no incluidos ni relacionados con los serotipos de la vacuna (31.81%). Los serotipos más frecuentemente encontrados fueron 19F (7), 23F (7), 6B (5), 14(5), todos ellos serotipos incluidos en la vacuna Heptavalente.

**Figura 3: Serotipos de *S. pneumoniae* de niños colonizados no vacunados.
Almoloya, Hidalgo. Julio 2004.**

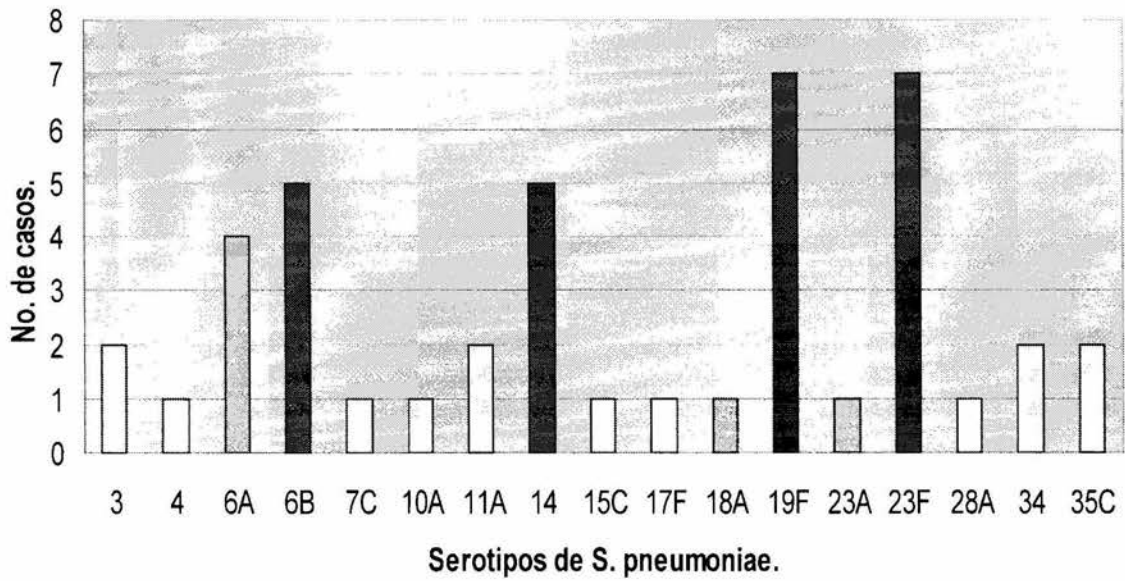
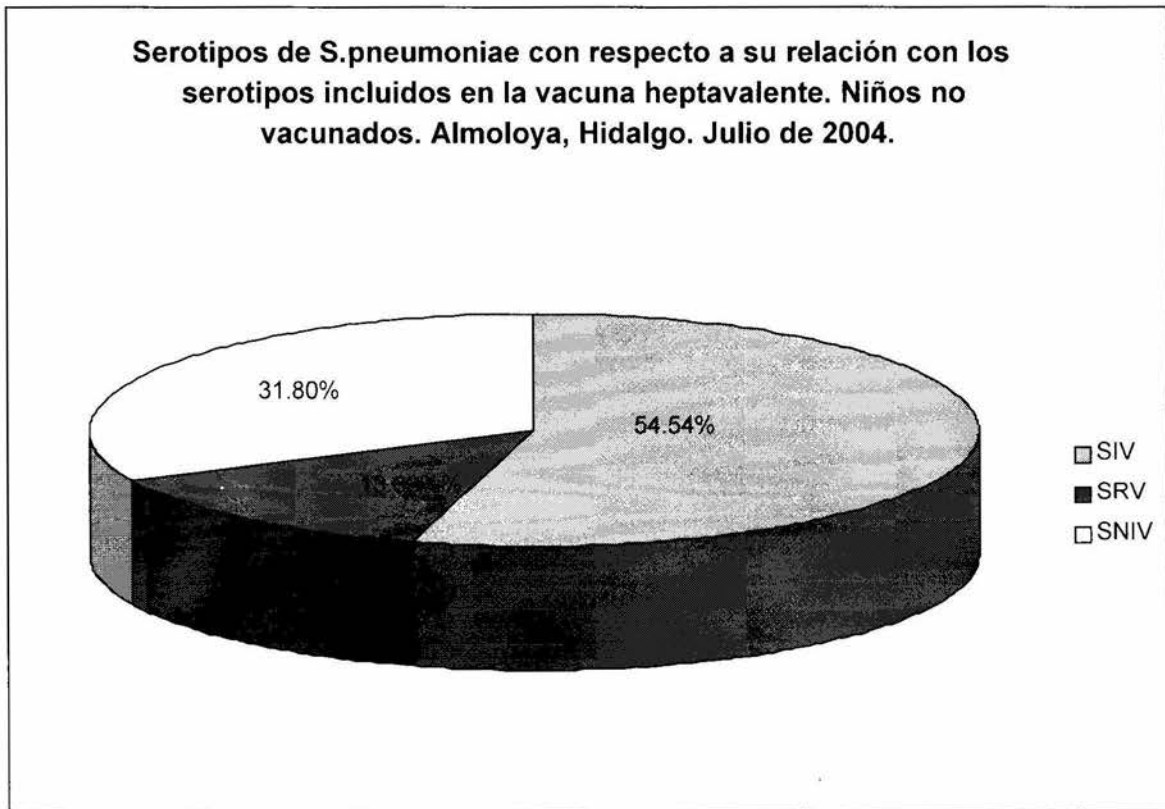


Figura4:



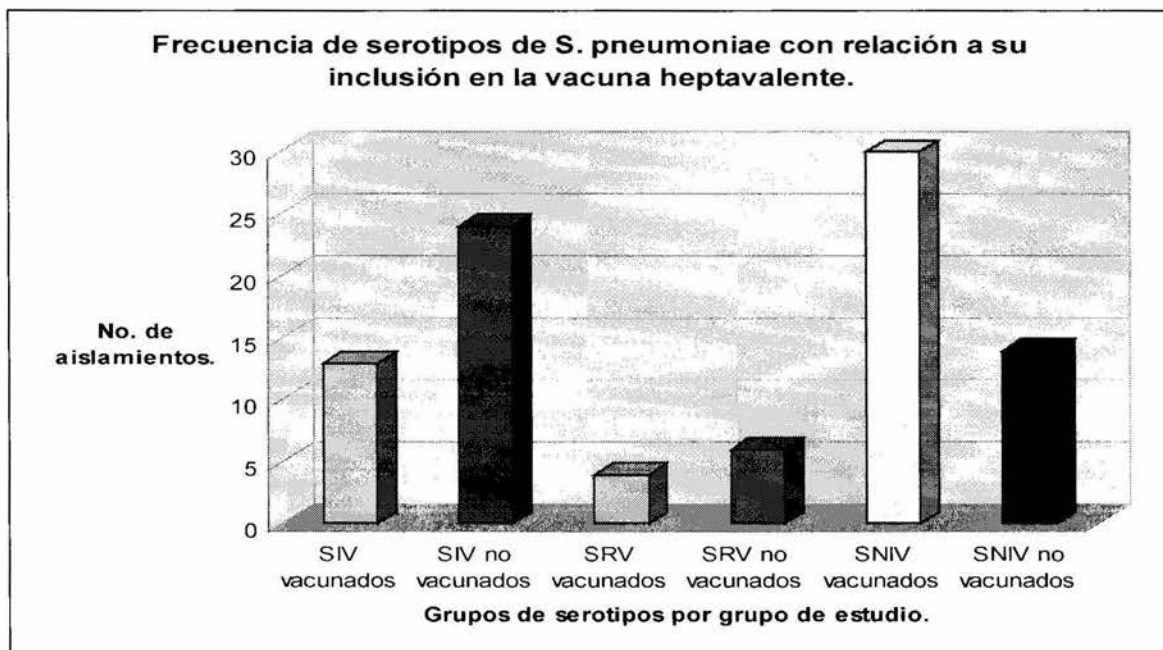
Al hacer el análisis con la prueba de Xi cuadrada, obtenemos los siguientes datos:

Tabla 1:

	Niños vacunados n(%)	Niños vacunados n(%)	no RR	IC 95%	P
Todos los serotipos	47 (35.07)	44 (34.37)	1.02	0.73-1.42	0.9
SIV	13 (27.65)	24 (54.54)	0.51	0.27-0.96	0.31
SRV	4 (8.51)	6 (13.63)	0.64	0.18-2.2	0.47
SNIV	30 (63.82)	14 (31.81)	2.05	1.14-3.68	0.013

Como se observa el riesgo relativo encontrado para colonización por serotipos no incluidos en la vacuna es significativo lo que podemos interpretar como una sustitución de serotipos en este grupo de niños, y lo podemos ver de forma grafica en la Figura 5.

Figura 5.



Resistencia.

En cuanto a la resistencia a la penicilina se tomo la definición del NCCLS con $MIC \leq 0.06 \mu\text{cg/ml}$ como sensible y tanto la resistencia intermedia como las cepas altamente resistentes se englobaron para fines de este trabajo como resistentes.

En el grupo no vacunado se encontró al 36.36% de las cepas con sensibilidad disminuida a la penicilina en cambio el grupo vacunado tuvo un porcentaje de 8.5% de resistencia a la penicilina (RR 0.23 IC 0.08-0.65 $p < 0.01$). cuando se analizo los diferentes serotipos se observo que había diferencia significativa solo para los serotipos incluidos en la vacuna (tabla 2).

Figura 6.

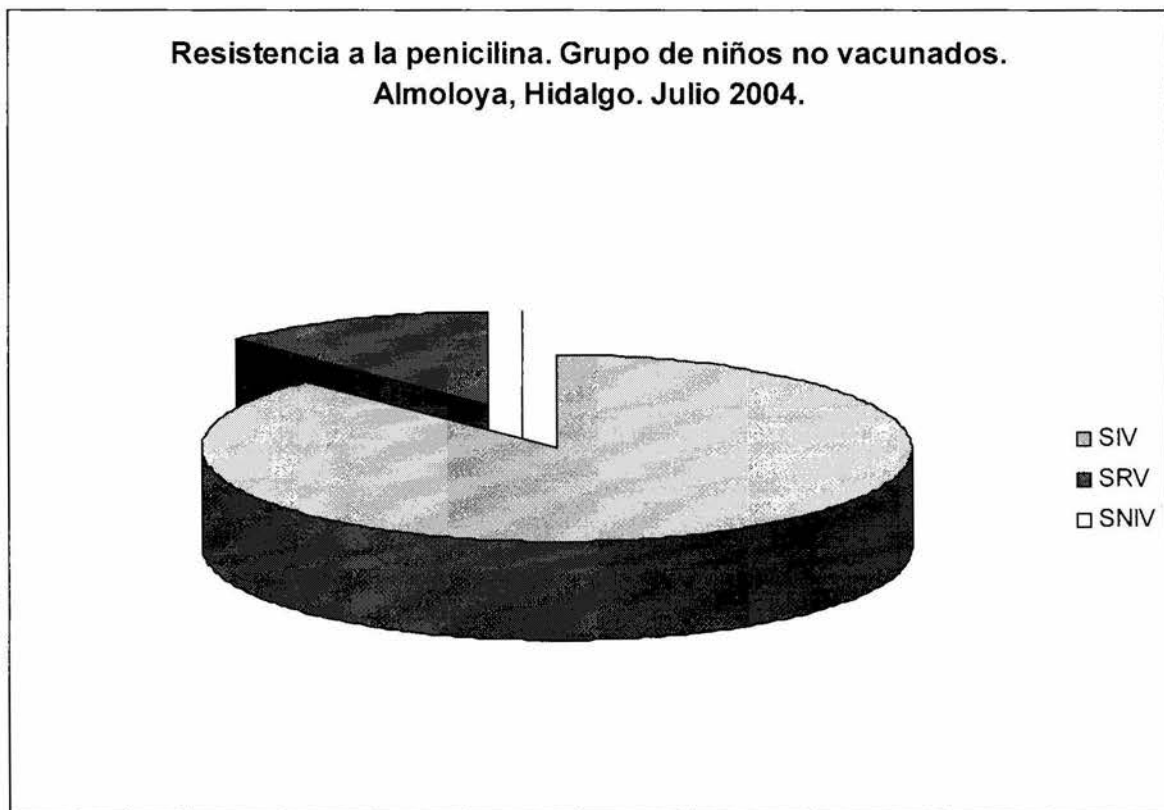


Figura 7.

Resistencia de *S. pneumoniae* a la penicilina. almoloya, Hidalgo.

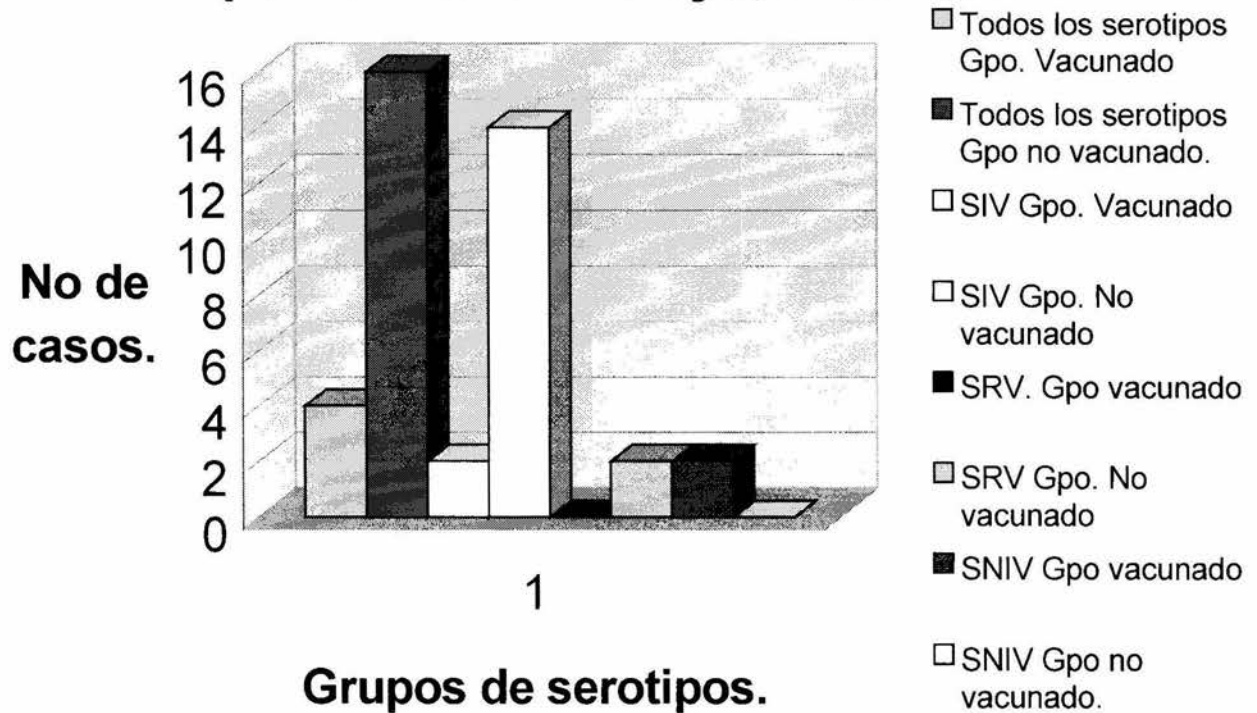


Tabla 2.

	Niños vacunados n(%)	Niños vacunados n (%)	no RR	IC 95%	P
Todos los serotipos.	4	16	0.23	0.008-0.65	0.001
SIV	2	14	0.26	0.07-0.99	0.011
SRV	0	2	0.6	0.07-4.83	0.62
SNIV	2	0	1	0.10-10.17	NS

DISCUSION.

La colonización nasofaríngea por patógenos respiratorios esta considerada como el primer paso para la presencia de enfermedad ya sea localizada o bien invasora, este tema se ha estudiado poco con relación al efecto que las vacunas tienen sobre la colonización por *S. pneumoniae* y con particular énfasis en población pediátrica son de especial interés las vacunas conjugadas.

En nuestro trabajo lo primero que tenemos que decir es que las muestras como ya se detallo anteriormente no fueron tomadas en un mismo tiempo, por lo que aquí tenemos un sesgo, consideramos que al no estarse aplicando la vacuna conjugada Heptavalente a la población abierta en nuestro país podemos comparar la colonización nasofaríngea de un grupo no vacunado contra un control histórico que en nuestro país se logro tener en el marco de otro estudio.

Los resultados de nuestro estudio son los esperados, los porcentajes de colonización están dentro de los esperado, ya que se han reportado porcentajes tan altos como del 60% en especial en países en vías de desarrollo y en nuestros dos grupos el porcentaje estuvo en 34 y 35%. Mbelle¹² había descrito la sustitución de serotipo que colonizan la nasofaringe de niños inmunizados con la vacuna 9-valente y Dagan también ya había reportado incluso una disminución en el porcentaje de portadores con la vacuna Heptavalente en el segundo año de edad, pero en otros estudios no se ha demostrado ninguna diferencia con la vacunación como es el caso del estudio de Laksman, pero en nuestra serie si encontramos una clara sustitución de serotipos que colonizan la nasofaringe en especial por serotipos que no tiene cruce inmunológico con los incluidos en la vacuna, esto tiene de relevante que estos serotipos se han asociado a un menor número de enfermedad invasora, y este puede ser uno de los mecanismos por el cual la vacuna proteja contra la enfermedad invasora.

Estos serotipos tienen menor porcentaje de cepas resistentes que las incluidas en la vacuna. En nuestro estudio la resistencia a la penicilina fue significativamente menor en todos los serotipos aislados de los niños vacunados, nosotros no analizamos si estos niños habían recibido o no antibióticos en las 4 semanas β -lactámicos y macrólidos se han asociado a portadores de cepas resistentes.

Con respecto al efecto rebaño, nosotros no lo observamos ya que de haber estado presente,, se hubiera observado los mismos porcentajes en todos los subgrupos de estudio y también se observaría sustitución de serotipos.

Conclusiones:

1. La vacuna Heptavalente conjugada de Neumococo no disminuye la colonización nasofaríngea en forma global.
2. La vacuna ocasionó en nuestro estudio que haya una sustitución de serotipos por aquellos no relacionados ni incluidos en la vacuna Heptavalente.
3. La vacuna en nuestro grupo disminuyó de forma significativa a los portadores de cepas resistentes, sin embargo para asegurar que es un efecto de la vacuna se requieren de estudios controlados para evaluar y controlar las variables que pueden influir en la colonización por cepas resistentes como son el uso de antibióticos.
4. El beneficio de la vacunación sobre la colonización nasofaríngea hasta el momento es controversial, pero si esta muy bien demostrado la disminución de la enfermedad invasora por lo que debe de aplicarse la recomendación internacional de vacunación universal para los menores de 2 años, con vacuna conjugada 7-valente.

5. Se requieren de más estudios para conocer la dinámica de la colonización nasofaríngea por *S. pneumoniae* en esta nueva época de inmunización.

Agradecemos al personal del laboratorio de bacteriología su valiosa colaboración para la realización de este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Black S, Shinefield H et. al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *Ped Infect Dis J* 2000, 19 (3):187-95.
2. CDC. Preventing Pneumococcal Disease Among Infants: recommendations of the Advisory Committee on Immunization. Advisory Committee on Immunization Practice, *Morbidity Mortality Weekly Report* 49, 1997 (RR 09) :1-38.
3. Echaniz - Avilés G, Velázquez- Meza ME, Carnalla – Barajas MN, Soto Nogueron A, Di Fabio JI, Solorzano-Santos F y Cols. Predominance of the multiresistence 23F international clone of the *S. pneumoniae* among isolates from Mexico *Microb Drug Resis* 1998;4(3):241-6
4. Echániz–Avilés I y Solórzano-Santos F. Meeting The Challenge: Prevention of Neumococcal Disease with Conjugate vaccines. *Salud Publica de México* 2001, 43 (4): 352-367.
5. Gómez - Barreto D., Calderón JE., Rodríguez SR., Espinosa- De Los Monteros LE. Características Clínico- Microbiológicas de la meningitis por *S. pneumoniae* resistente a la penicilina, Documento interno del Hospital Infantil “Federico Gómez”, 2000.
6. Gómez - Barreto D., Calderón JE., Rodríguez SR., Espinosa- De Los Monteros LE: Nasopharyngeal carriage of antibiotic – resistant pneumococci: A prevalence survey in children in a day care center during two period. *Sauld públca de méxico*. 2002;44:26-32.
7. Isenberg, HD, Collections, transport and manipulation of Clinical specimens pag. 3-36 en Isenberg, HD(ed.) *Essential Procedures for Clinical Microbiology* 1ª edicion .Washington ,D.C. 1998
8. Monografía de producto. Vacuna Conjugada Pneumocócica 7-valente (Conjugado Proteína Diftérica CRM₁₉₇), Oxford Institute, Wyeth Lederle división de vacunas, 2001:1-57.
9. Musher MD. *Streptococcus pneumoniae* en Mandell GL, John BE., Dolin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5ta edición, Ed Churchill Livingstone Philadelphia 2000: 2128-2146
10. Poland GA: The Burden of Pneumococcal disease: The role of conjugated vaccines. *Vaccine* 1999;17:1674-9

11. Prado V. Conceptos Microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*. Rev Chil Infect 2001; 18:6-9
12. Mbelle N., Huebner R., Wasas AD., Kimura A., Chang I., Klugman KP. Immunogenicity And impact on Nasopharyngeal Carriage of a Nonavalent Pneumococcal Conjugate Vaccine. J. Infect. Dis. 1999. 180:1171-6.
13. Cundell DR, Gerard NP, Gerard C, Idanpaan-Heikkila I, Tuomanen EI. *Streptococcus pneumoniae* anchor to activated human cells by the receptor for platelet-activating factor. Nature 1995;377:435-8.
14. McCullers JA, Rehg JE. Lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*: characterization of a mouse model and the role of platelet-activating factor receptor. J Infect Dis 2002;186:341-50 .
15. Rosenow C, Ryan P, Weiser JN, et al. Contribution of novel choline-binding proteins to adherence, colonization and immunogenicity of *Streptococcus pneumoniae*. Mol Microbiol 1997;25:819-29.
16. Laksman R., Murdoch C., Race G., Burkinshaw R., Shaw L., Finn A. Pneumococcal nasopharyngeal carriage in children following heptavalent pneumococcal conjugate vaccination in infancy. Arch dis Child 2003; 88:211-214.
17. Dagan R., Muallem M., Melamed R., Leroy O., Yagupsky P. Reduction of pneumococcal nasopharyngeal carriage in early infancy after immunization with tetravalent pneumococcal vaccines conjugated to either tetanus toxoid or diphtheria. Pediatr Infect Dis J. 1997; 16: 1060-4.
18. Obaro SK., Adegbola RA., Chang IH., Winsto AS., et al. Safety and immunogenicity of a nonavalent pneumococcal vaccine conjugated to CRM197 administered simultaneously but in a separated syringe with diphtheria, tetanus and pertussis vaccines in Gambian infants. Pediatr Infect Dis J 2000; 19: 463-9.
19. Obaro S., Adegbola RA., Banya WAS., Greenwood BM. Carriage of pneumococci after pneumococcal vaccination. The Lancet :348:
20. Ghaffaar F., Friendland IR., McCracken GH. Dynamics of nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*. Pediatric Infectious Disease Journal 1999; 18: 638-46.
21. Faden H., Duffy L., Wasielewski R., Wolf J., Krystofik DA., Tung Y. et al. Relationship between nasopharyngeal colonization and the development of otitis media in children. Journal of Infectious Diseases 1997; 175: 1440-5.

22. Raymond J., Le Thomas I., Moulin F., Commeau A., Gendrel D., Berche P. Sequential colonization by *Streptococcus pneumoniae* of healthy children living in an orphanage. *Journal of Infectious Diseases* 2000; 181: 1983-8.
23. Coles CL., Kaningo R., Rahmathullah L., Thularisaj RD., Katz J., Santosham M., et al. Pneumococcal nasopharyngeal colonization in young South Indian infants. *Pediatric Infectious Diseases Journal* 2001; 20: 289-95.
24. Syrjanen RK., Kilpi TM., Kaijalainen TH., Herva EE., Takala AK. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in Finnish children younger than 2 years old. *Journal of Infectious Diseases* 2001; 184: 451-9.
25. Whitney CG., Farley MM., Hadler J. Et al. Decline in Invasive Pneumococcal Disease after the Introduction of Protein-Polysaccharide Conjugate Vaccine. *N Engl Med.* 2003; 48: 1737-1746.