

11262
40



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**COMPARACION DE LA RESPUESTA INMUNOLOGICA CELULAR, HUMORAL
Y EFECTOS COLATERALES DE LA VACUNA DE SARAMPION
ADMINISTRADA POR VIA AEROSOL Y SUBCUTANEA EN NIÑOS SANOS DE
1 AÑO DE EDAD**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS**

P R E S E N T A :

DRA. ROSA MARIA WONG CHEW

TUTOR: DR. JOSE IGNACIO SANTOS PRECIADO

MEXICO, D.F.

2003

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

7



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**COMPARACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA CELULAR, HUMORAL
Y EFECTOS COLATERALES DE LA VACUNA DE SARAMPION
ADMINISTRADA POR VIA AEROSOL Y SUBCUTANEA EN NIÑOS SANOS DE
1 AÑO DE EDAD**

Alumna de maestria: Dra. Rosa María Wong Chew

Tutor: Dr. José Ignacio Santos Preciado

**Laboratorio de Infectología, Microbiología, e Inmunología
Departamento de Medicina Experimental
Facultad de Medicina UNAM
México, D. F.**

INSTITUCIONES PARTICIPANTES

**Departamento de Pediatría
División de Infectología Pediátrica
Centro Médico
Universidad de Stanford
California, Estados Unidos**

**Instituto Nacional de Salud Pública
Cuernavaca, Morelos**

**Food and Drug Administration,
Division of Viral Products,
Rockville, Maryland, E. U.**

**Centro Nacional Para la Salud de
Infancia y la Adolescencia,
Secretaria de Salud, México.**

**Consejo Nacional de Vacunación,
Secretaria de Salud, México.**

2003

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

B

México, D. F., a 30 de julio de 2002.

DR. LUIS FELIPE ABREU HERNÁNDEZ
COORDINADOR DEL PROGRAMA,
P R E S E N T E .

Estimado Dr. Abreu:

Por medio de la presente me permito informar a usted que la alumna **Rosa Maria Wong Chew** del nivel maestría en Ciencias, en el Campo del conocimiento de las Ciencias Médicas, adscrita a la Unidad Operativa Centro, ha concluido la tesis: "**Comparación de la respuesta inmunológica celular, humoral y efectos colaterales de la vacuna de sarampión administrada por vía aerosol y subcutánea en niños sanos de 1 año de edad**". Esta reúne la originalidad y calidad suficiente para ser sometida a consideración del jurado de examen de grado. Solicito a usted se sirva poner a consideración del Subcomité Académico del campo de las Ciencias Médicas la conformación del Jurado de Examen de grado.

En espera de su amable respuesta quedo de usted.

Atentamente,


Dr. José Ignacio Santos Preciado,
Tutor.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C



**COORDINACIÓN DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ING. LEOPOLDO SILVA GUTIÉRREZ
DIRECTOR GENERAL DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
Presente

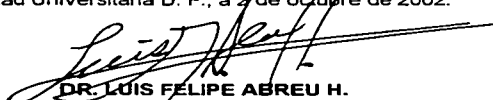
Me permito informar a usted, que el Subcomité Académico de las Ciencias Médicas, del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, según acuerdo A43(CM/SCA/SO/31/02) acordó designar y se formaliza por el Comité Académico del Programa, el jurado para el examen de grado de **Maestra en Ciencias**, (Plan 4006) de la C. **Rosa María Wong Chew**, quien defenderá la tesis denominada "**Comparación de la respuesta inmunológica celular, humoral y efectos colaterales de la vacuna de sarampión administrada por vía aerosol y subcutánea en niños sanos de 1 año de edad**".

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
SUPLENTE
SUPLENTE

DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO GARCÍA
DR. MANUEL SIGFRIDO RANGEL FRAUSTO
DR. JOSÉ IGNACIO SANTOS PRECIADO
DRA. CELIA MERCEDES ALPUCHE ARANDA
DR. FORTINO SOLÓRZANO SANTOS

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria D. F., a 2 de octubre de 2002.


DR. LUIS FELIPE ABREU H.
El Coordinador

NOTA: Por acuerdo del Subcomité Académico, la formalización de este Jurado de Examen de Grado, tiene una vigencia de 6 (seis) meses a partir de la fecha de aprobación del mismo. Excedido el tiempo, el alumno deberá someter a consideración del Subcomité Académico una nueva propuesta de jurado.

LEAH/IGT/MEMK

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

D

A mis queridas hijas Karen y Katia.

A mi querido esposo Michael por todo su apoyo y comprensión.

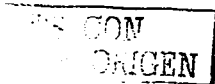
A mis padres y hermanos.

A mis maestros, especialmente a los Dres. Yvonne Maldonado, Ann Arvin y José Ignacio Santos por todo su apoyo para la realización de este proyecto.

INDICE

Página

RESUMEN	1
ANTECEDENTES	2
Historia del sarampión	2
Situación del sarampión	3
La enfermedad causada por el virus de sarampión	4
La inmunidad ante la enfermedad	5
La vacuna de sarampión en aerosol y la inmunidad	7
La inmunidad en la vacuna de sarampión por vía subcutánea	9
JUSTIFICACION	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO	13
TIPO DE INVESTIGACIÓN	13
DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO	14
VACUNA DE SARAMPIÓN	14
Vacuna administrada por vía aerosol	15
Vacuna administrada por vía subcutánea	15
POBLACIÓN DE ESTUDIO	16
CRITERIOS DE INCLUSION	16
CRITERIOS DE EXCLUSION	16
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	16
VARIABLES	17
PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO	22
Estudios de laboratorio	23
a) Ensayos de inmunidad mediada por células	23
b) Ensayos de anticuerpos neutralizantes contra sarampión	24
c) Ensayos de Interferón gamma	25
Análisis estadístico	26
CONSIDERACIONES ETICAS	27
RECURSOS	28
RESULTADOS	29
Respuesta inmune celular	29
Respuesta inmune humoral	30
Inducción de la inmunidad adaptativa	30
Efectos temporalmente asociados a vacunación	31
DISCUSIÓN	32
Respuesta inmune celular	32
Respuesta inmune humoral	33
Inducción de respuesta adaptativa a la vacuna de sarampión	34
Efectos temporalmente asociados a vacunación	37
CONCLUSIONES	39
BIBLIOGRAFIA	40
Anexo 1 (Consentimiento informado)	48
TABLA 1	51



F

FIGURA 1	52
TABLA 2	53
FIGURA 2	54
FIGURA 3	55
FIGURA 4	56
FIGURA 5	57
TABLA 3	58
TABLA 4	59

ANÁLISIS COM
DE ORIGEN

G

RESUMEN

El sarampión continúa siendo un problema importante debido a que constituye el 10% de la mortalidad global en niños menores de 5 años de edad. La vacuna de sarampión en aerosol ha probado ser inmunogénica y no reactivogénica en escolares. En este estudio se investigó la inmunogenicidad después de la vacunación primaria con vacuna de sarampión en aerosol en niños de 1 año de edad.

Material y métodos: Se comparó la vacuna de sarampión Edmonston Zagreb como inmunización primaria, administrada por vía aerosol ($10^{3.6}$ pfu/0.1 ml) o subcutánea ($10^{4.27}$ pfu/0.5 ml) en niños sanos de 12 meses de edad. Se tomaron muestras de sangre antes y 12 semanas después de la inmunización. Se midió la respuesta celular mediante un ensayo de linfoproliferación, la respuesta humoral mediante un ensayo de neutralización en placa y se registraron los efectos temporalmente asociados a vacunación; en un subgrupo se midieron los niveles de IFN γ .

Resultados: Se incluyeron 114 niños, 55 recibieron la vacuna subcutánea (30 masculinos y 25 femeninos) y 59 vía aerosol (28 masculinos y 31 femeninos). El porcentaje de niños con proliferación de células T con un $IE \geq 3$ fue de 72% vs. 87% (aerosol vs. subcutánea) ($p=0.06$); con una mediana de 4.51 (2.94-7.83) vs. 6.18 (3.90- 10.87) (vía aerosol vs. subcutánea) ($p=0.02$). Los niveles de IFN γ fueron de 116.68 ± 76 pg/ml vs. 97.1 ± 65.5 pg/ml (aerosol vs. subcutánea) ($p=0.48$). La seroconversión (excluyendo aquellos con anticuerpos maternos) fue de 91% vs. 100% (aerosol vs. subcutánea) ($p=0.03$). Los títulos medios geométricos (TMG) fueron de 237 mUI (IC95% 146-385) vs. 487 mUI (IC95% 390-609) (aerosol vs. subcutánea) ($p=0.005$). En los niños que no hubo seroconversión en el grupo de aerosol, 100% tuvieron un $IE \geq 3$. Los efectos colaterales que mostraron diferencia estadística fueron: hiperemia conjuntival y/o lagrimeo en 57% vs. 37% (aerosol vs. subcutánea) ($p=0.01$).

Conclusiones: No hubo diferencias en el porcentaje de niños con respuestas celulares en los grupos aerosol y subcutáneo, pero sí en la mediana de cada grupo, presentando el grupo subcutáneo una mejor respuesta. En contraste con lo observado cuando la vacuna anti sarampión se administra como dosis de refuerzo en escolares, los títulos medios geométricos de anticuerpos fueron menores en niños de un año que recibieron la vacunación primaria por aerosol. Esta menor respuesta humoral en el grupo aerosol puede ser debida a que la dosis recibida a nivel de mucosas sea menor. Estos resultados sugieren que se debe aumentar la dosis (concentración de partículas virales) en la vacuna aplicada por aerosol cuando se administra como vacunación primaria a lactantes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTECEDENTES

Historia del sarampión

Las primeras epidemias de sarampión registradas, tuvieron lugar en el Imperio Romano y en China hace 1800 años. Rhazes, un médico persa que vivió en el siglo X fue el primero en identificar al sarampión como una entidad diferente a la viruela. Durante los siglos XVIII y XIX se reportaron varias epidemias de sarampión en Europa.

El primer reporte en América lo realizó John Hall en Boston en 1657. Homé en 1758 intentó inmunizar contra sarampión utilizando una técnica similar a la variolización.

El clásico estudio epidemiológico es el de las Islas Faroe en 1846 por Pannum. En éste estudio, Pannum confirmó que la diseminación únicamente es a través de la vía respiratoria por contacto de un humano con otro, el periodo de incubación es de 14 días y la infección confiere inmunidad de por vida.

El enantema del sarampión fue descrito detalladamente por Koplik en 1896.

Los primeros que lograron aislar el agente infeccioso fueron Enders y Peebles en 1954, aislando el virus en cultivo de células renales humanas o simianas a partir de un paciente con sarampión. También demostraron la capacidad del suero de pacientes convalecientes de neutralizar el efecto citopático del virus.

El desarrollo de vacuna contra sarampión inició con la posibilidad de poder cultivar el virus, su adaptación para crecimiento y atenuación en cultivo tisular de embrión de pollo. Después de varios ensayos clínicos desde 1958 hasta 1962, se

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

obtuvieron vacunas de sarampión crecidas en cultivos tisulares inactivadas ("muertas") y atenuadas ("vivas"), disponibles para su uso general en 1963. En 1965 se iniciaron las Campañas Nacionales de vacunación contra sarampión en Estados Unidos ¹.

Situación del sarampión

De acuerdo con la OMS, antes de la introducción del Programa Ampliado de Inmunizaciones durante los 60's, se reportaban 130 millones de casos de sarampión anualmente en el mundo, con 30 millones de muertes. Después de la introducción del Programa; en 1990 se reportaron 29 millones de casos en países en desarrollo con 880,000 muertes ². A pesar de la disponibilidad de la vacuna de sarampión de virus vivos atenuados, las infecciones por sarampión representan un 5% de la mortalidad global de todas las causas en niños menores de 5 años ³. La mayor mortalidad asociada a sarampión tiene lugar en lactantes de 4 a 12 meses de edad ⁴⁻⁷. El porcentaje de cobertura global de vacunación con sarampión ha mejorado dramáticamente de un estimado de 5% en 1977 a un estimado de 81% en 1996 en el mundo. Sin embargo, el sarampión es altamente transmisible por la vía respiratoria por lo que una pequeña población de susceptibles puede dar lugar a un brote. La erradicación del sarampión requiere un 95% de cobertura con una vacuna que sea 100% efectiva ⁸. Sin embargo, en condiciones óptimas de preparación, conservación y aplicación, las vacunas disponibles tienen una eficacia de 95%. De tal manera que coberturas de 95% solo brindan un 90 % de protección dejando un 10% de susceptibles. La mayoría de los lactantes pueden ser protegidos contra sarampión por inmunidad de grupo pero las epidemias

TELE COPY
FALLA DE ORIGEN

comunitarias se dan aun en poblaciones altamente vacunadas en países desarrollados ⁹.

En México desde la introducción de la vacuna de sarampión a las Campañas Nacionales de Vacunación en 1973, la morbilidad por sarampión ha disminuido dramáticamente de 177.4 casos por 100.000 habitantes en 1964 a 2.5 casos por 100.000 habitantes en 1975 ¹⁰. En 1989 y 1990 hubo una pandemia de sarampión en el continente americano, en México se registraron 20,381 y 68,782 casos respectivamente ¹¹. A raíz de ese brote en México, en 1991 se adoptó el régimen de 2 dosis ¹⁰. La intensificación de las campañas, permitió una reducción de casos a partir de 1991. Las tasas de incidencia disminuyeron de 80.2 en 1990 a 0.14 en 1994 ¹¹. De 1997 a 1999 no hubo casos de sarampión autóctono, en el año 2000 se presentaron 28 casos no prevenibles por vacunación en niños menores de 12 meses y adultos jóvenes, en 2001 se presentaron 3 casos ¹¹ y en el 2003 hasta el mes de junio se han presentado 7 casos ¹².

La enfermedad causada por el virus de sarampión

El sarampión es una enfermedad exantemática causada por el virus de sarampión, un virus de RNA, del genero *Morbillivirus*, de la familia *Paramyxoviridae*. Es altamente contagioso, se disemina por la vía respiratoria, de una persona infectada a otra no inmune por medio de gotitas aerosolizadas de secreciones respiratorias.

El periodo de incubación es de 10 días (8 a 12). Primero se presenta un periodo prodrómico que dura de 2 a 4 días, caracterizado por malestar general, fiebre, coriza, faringitis, conjuntivitis y tos, éste cuadro semeja un resfriado común.

TESIS COM
FALLA DE ORIGEN

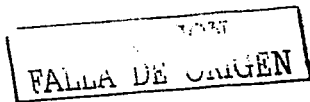
Alrededor del día 10 se presentan las manchas de Koplik que son características del sarampión, éstas consisten en manchas blanquecinas sobre un halo eritematoso en la mucosa bucal, duran aproximadamente 7 días.

Alrededor del día 14, se presenta el periodo exantemático; éste consiste en la presencia de un exantema maculo papular eritematoso confluyente de presentación cefalocaudal. Por lo general, primero se afecta la parte posterior de las orejas y de ahí se disemina el exantema hacia la cara, tronco, y extremidades. Alrededor del 3^{er} o 4^o día, el exantema se vuelve color cobrizo y empieza a desaparecer en la misma dirección cefalocaudal, dejando una descamación fina. Este periodo dura alrededor de 7 días.

Las complicaciones que pueden presentarse son: neumonía en 55% de los casos en etapas tempranas de la enfermedad lo que sugiere neumonitis, y hasta en 30% neumonía por sobreinfección bacteriana; otitis media hasta en un 5%; laringitis y laringotraqueítis leve; alteraciones electrocardiográficas hasta en un 19% con miocarditis y pericarditis ocasional; encefalitis en 0.73 por 1000 casos que se presenta por lo general en el periodo exantemático y panencefalitis esclerosante subaguda que es una enfermedad rara degenerativa debido a una infección persistente del sistema nervioso central, que se presenta entre 0.6 y 2.2 por 100,000 casos, en promedio 7 años después de haber padecido la enfermedad ¹.

La inmunidad ante la enfermedad

Después de la infección natural por el virus de sarampión, se dan varias respuestas inmunológicas específicas y no específicas.



Una vez que es infectado el huésped se producen anticuerpos séricos tipo IgG e IgM contra las proteínas N, F, H y M del virus de sarampión ^{13, 14}. Se empiezan a detectar alrededor del día 14, su pico máximo es a las 4 a 6 semanas, y después empiezan a declinar conforme pasa el tiempo, dejando inmunidad de por vida ¹⁵. La infección primaria se caracteriza por la producción de IgM, la respuesta es corta y dura aproximadamente 9 semanas después de la infección, posteriormente hay producción de IgG que es principalmente de las subclases IgG1 e IgG4 y persisten de por vida ¹⁶⁻¹⁸.

Las células T son importantes como cooperadoras en las respuestas de células B en la producción de anticuerpos antivirales y como células efectoras para la eliminación de los tejidos infectados por el virus. Durante la infección, las células T CD8+ eliminan células infectadas por el virus mediante mecanismos citotóxicos dependientes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase I. Las células T CD4+ responden a la infección del virus de sarampión mediante la secreción de citocinas ^{19, 20}.

En la infección inicial, las células T CD4+ responden con una respuesta Th1. Antes del exantema hay aumento de IFN γ plasmático, y durante el exantema IL-2. Durante la recuperación aumenta IL-4 plasmática (respuesta Th2) y permanece elevada por varias semanas, disminuyendo la respuesta Th1. Durante la re-exposición se dan respuestas Th1 y Th2 ^{19, 20}.

Los mecanismos de recuperación después de la infección con el virus están dados principalmente por células T (CD4+ y CD8+) que destruyen células de los

TRINIDAD
CON
UNGEN

tejidos infectados con el virus por medio de citotoxicidad. El IFN- α que es liberado por varias células incluyendo células T, inhibe la diseminación del virus¹.

Los anticuerpos actúan en la protección contra reinfecciones¹³. Sin embargo, hay reportes de personas que no tienen niveles de anticuerpos y no presentan enfermedad a pesar de exposiciones repetidas, presentando una respuesta celular importante contra sarampión, lo que sugiere que la memoria de la inmunidad celular también juega un papel en la protección^{21, 22}.

La vacuna de sarampión en aerosol y la inmunidad

Desde los inicios del desarrollo de la vacuna de sarampión durante los 60's, se han explorado otras rutas de administración (conjuntival, nasal, oral, aerosol, intradérmica)²³⁻²⁷. Además de la vía subcutánea que ha probado producir una respuesta humoral protectora, la vacuna administrada por vía aerosol se ha estudiado en varios ensayos clínicos²⁷⁻⁴⁰ (Tabla 1).

Como se señala en la tabla 1, el porcentaje de seroconversión post vacunación con la vacuna de sarampión en aerosol varía de estudio a estudio. Estas variaciones en el porcentaje de seroconversión pueden ser explicadas por diferentes condiciones: edad del grupo que fue vacunado y si tenían presencia de anticuerpos pasivos maternos que pudieran neutralizar al virus vacunal, cepa de virus atenuado utilizada en la vacuna, método de administración del aerosol, la sensibilidad del ensayo utilizado para determinación de anticuerpos, etc. En general, se sugiere que la vacuna de sarampión administrada por vía aerosol tiene varias ventajas: a) no es invasiva, b) algunos estudios muestran que produce una

TESIS CON
DE ORIGEN

buena respuesta serológica y de refuerzo, c) puede ser efectiva en niños con anticuerpos pasivos, d) tiene el potencial de estimular la inmunidad local y prevenir la re-infección, e) puede ser aplicada por personal no médico, f) disminuye el riesgo de infecciones y complicaciones asociadas al uso de jeringa y aguja. Algunas de las desventajas son: a) dosis estimada imprecisa, b) el aparato requiere hielo y es incómodo, c) la posibilidad de transmisión de virus respiratorios que pueden colonizar el nebulizador, d) dificultad en la administración en niños muy pequeños en algunos estudios ²⁷.

En México, la vacuna de sarampión en aerosol se ha utilizado para la vacunación en masa durante las campañas de 1988 a 1990, un total de 3,760,684 niños fueron vacunados por este método en 13 estados ²⁸, sin embargo no hubo seguimiento individual posterior. En 1999 se realizó en el estado de Hidalgo, un estudio con vacuna de sarampión en aerosol comparada con la vacuna por vía subcutánea, aplicada como refuerzo en escolares, encontrando una mayor respuesta de anticuerpos y mayor seguridad en el grupo que recibió la vacuna por vía aerosol ⁴⁰.

La administración en aerosol de la vacuna de sarampión reproduce la ruta natural de inoculación del virus. La inmunidad producida por una vacuna administrada por vía mucosa puede tener ventajas para inducir protección contra la infección natural si la respuesta mucosa local se aumenta. En algunas circunstancias, la exposición a antígenos virales en las mucosas puede despertar una respuesta en la inmunidad sin la interferencia de anticuerpos pasivos ³¹.

TESIS CON
CÓPIA DE ORIGEN

Además de los beneficios potenciales en la inmunogenicidad, la administración de la vacuna de sarampión por mucosas puede tener ventajas prácticas para los programas de erradicación de sarampión.

La inmunidad en la vacuna de sarampión por vía subcutánea

En Estados Unidos, la experiencia inicial con la vacuna de sarampión de virus vivos atenuados aplicada en forma subcutánea demostró pobre seroconversión en niños que fueron vacunados cuando tenían menos de 12 meses de edad, esto se correlacionaba con la persistencia de anticuerpos pasivos contra sarampión cuando las madres tenían inmunidad a sarampión adquirida en forma natural ⁴¹⁻⁴⁴.

La pérdida temprana de anticuerpos maternos en los hijos de mujeres que tienen inmunidad contra sarampión adquirida por vacunación, ha permitido comparar la inmunogenicidad en niños de 6, 9 y 12 meses de edad, sin la variable de interferencia por anticuerpos pasivos de la madre en los niños menores de 12 meses ⁴⁵⁻⁴⁹.

El análisis de la inmunidad celular y humoral contra sarampión en niños que fueron vacunados durante el primer año de edad genera varias observaciones importantes:

Primero, muchos niños que fueron inmunizados a los 6 meses de edad no desarrollaron anticuerpos neutralizantes o tuvieron títulos de anticuerpos por debajo del rango considerado como protector. Esta deficiencia en la respuesta humoral fue observada en niños de 6 meses de edad que no tenían anticuerpos pasivos contra sarampión en el momento que se aplicó la vacuna ⁴⁷.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Segundo, la respuesta inmunológica mediada por células, específica de sarampión, fue menor en los niños vacunados que en los adultos, sugiriendo una restricción relativa en la respuesta adaptativa de células T^{47, 48}.

Tercero, aunque la proliferación de células T y las respuestas de citocinas fueron menores, la mayoría de los niños vacunados desarrollaron respuesta inmunológica celular a antígenos de sarampión incluyendo aquellos niños de 6 meses que no desarrollaron anticuerpos y aquellos niños de 9 y 12 meses que tuvieron presencia de anticuerpos pasivos maternos previos a la vacunación; lo que sugiere que aun cuando no hay títulos de anticuerpos detectables éstos niños desarrollan una respuesta inmune celular contra sarampión al ser vacunados y la inmunidad celular puede ser otra forma de medir la protección. Los anticuerpos contra sarampión adquiridos por vía transplacentaria aparentemente no interfieren con la sensibilización de células T a antígenos de sarampión cuando se aplica vacuna de sarampión de virus vivos atenuados, incluyendo aquellos niños que fueron inmunizados a los 6 meses^{47, 49}.

Hay algunos estudios sobre la respuesta inmune celular a la vacuna de sarampión por vía subcutánea⁴⁷⁻⁵¹. Algunos de estos estudios sugieren que las respuestas celulares pueden ser más duraderas que los títulos de anticuerpos en algunos niños vacunados⁵⁰. No obstante, el papel específico de la inmunidad celular en la protección contra sarampión a largo plazo no se conoce.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En éste estudio de colaboración entre investigadores de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), la Universidad de Stanford, California, Estados Unidos y el Food and Drug Administration, Estados Unidos, se evaluó la inmunogenicidad y seguridad de la vacuna de sarampión cepa Edmonston-Zagreb que por asignación aleatoria fué administrada por vía subcutánea o vía aerosol a niños mexicanos de 12 meses de edad que recibieron su primera dosis de vacuna de sarampión. Esta cepa vacunal se prepara en células diploides humanas y se cuenta con una amplia experiencia clínica.

Este estudio realiza por primera vez el análisis de la respuesta inmune celular después de la administración de vacuna de sarampión en aerosol como dosis primaria en niños de 12 meses de edad.

RECIBO CON
VALLE DE ORIGEN

JUSTIFICACION

A pesar de contar con una vacuna de sarampión de virus vivos atenuados eficaz, aun existen brotes de sarampión en poblaciones vacunadas. Es importante estudiar otras alternativas de inmunización que podrían contribuir a una mayor eficiencia en la vacunación.

En una época en la que varios patógenos pueden ser transmitidos por vía parenteral, la aplicación de vacunas por vía aerosol puede tener ventajas prácticas al disminuir el riesgo de transmisión de ciertos patógenos como VIH, Hepatitis B y C; de los cuales se ha calculado una incidencia en el mundo de 8 a 16 millones de infecciones para hepatitis B, 2 a 4 millones de infecciones para hepatitis C y 80,000 a 160.000 infecciones por VIH atribuibles al uso de inyecciones no seguras

52

La respuesta inmune humoral a la vacuna de sarampión en aerosol se ha demostrado²⁷⁻⁴⁰, no así la respuesta inmune celular. La repuesta celular puede ser otra forma de evaluación de la respuesta inmune a la vacunación. Si la respuesta es equivalente por ambas vías, la vacuna de sarampión en aerosol podría proveer una forma de aplicación más aceptada por niños y madres que la vía subcutánea, lo que ayudaría en la vacunación en masa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Se produce una respuesta inmunológica celular y humoral, así como efectos colaterales equivalentes en niños sanos que reciben como dosis primaria la vacuna de sarampión aplicada en aerosol comparada con la vacuna aplicada en forma subcutánea?

HIPÓTESIS

La vacuna de sarampión administrada a niños de 12 meses de edad por vía aerosol como inmunización primaria contra sarampión producirá una respuesta inmune celular y humoral, así como efectos colaterales equivalentes a aquellos niños vacunados por vía subcutánea.

OBJETIVO

Comparar la respuesta inmune celular y humoral, así como efectos colaterales de la vacuna Edmonston Zagreb, administrada por vía aerosol y subcutánea en niños de 12 meses de edad como dosis primaria.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

Estudio clínico, experimental, prospectivo, aleatorizado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO

Durante un período de 1 año, se reclutaron 147 niños de la población de Cuernavaca, Morelos, que recibieron en forma aleatoria la inmunización primaria contra sarampión por administración subcutánea o aerosol. Los niños fueron visitados en sus casas donde se les tomaron muestras de sangre (3-5 ml) inmediatamente antes de la vacunación y 12 semanas después de la inmunización. Se comparó la inmunidad humoral y celular específica contra sarampión; los anticuerpos neutralizantes contra sarampión y la proliferación de células T al antígeno de sarampión fueron medidos antes de la administración de la vacuna y 12 semanas después de la inmunización. Los niños fueron visitados durante 14 días consecutivos y a los 30 días posteriores a la vacunación para vigilar la reactogenicidad de la vacuna. Los ensayos de laboratorio se realizaron en el Departamento de Medicina Experimental, UNAM y en el laboratorio de la Dra. Judy Beeler en el Food and Drug Administration, Estados Unidos.

Todos los niños recibieron una segunda dosis de vacuna de sarampión por vía subcutánea en la vacuna MMR (sarampión, paperas y rubéola) al momento de tomar la 2ª muestra de sangre 3 meses después de la 1ª dosis, para completar el esquema de vacunación con paperas y rubeola.

VACUNA DE SARAMPION

Los niños recibieron la vacuna Moraten-Berna (cepa Edmonston Zagreb) producida y proporcionada por el Instituto Nacional de Virología en México. La potencia de la vacuna fue de $10^{4.27}$ unidades formadoras de placa (pfu)/0.5 ml. Se utilizó un lote de vacuna de sarampión para todo el estudio. La presentación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

fue liofilizada y se reconstituyó en el momento de la inmunización, por cualquiera de las 2 rutas. Las vacunas fueron guardadas a 4° C hasta el momento de la administración. Una dosis se guardó cada mes durante el curso del estudio para probar la potencia.

Vacuna administrada por vía aerosol

La vacuna reconstituida en forma líquida se aplicó en aerosol por medio de la técnica del Dr. Fernández de Castro¹⁰. Se colocó la preparación líquida de 10 dosis en un nebulizador rígido de plástico (AeroMist Treatment Set of IPI Medical Products, Catalogue no. 4107, IPI Medical Products) el cual se introdujo dentro de una cubeta de hielo. El nebulizador se conecta a un tubo recto unido a un cono cubierto con un cono de papel, del cual el niño inhala la vacuna por un periodo de 30 segundos (aproximadamente 0.1 ml de la vacuna reconstituida). El cono de papel se descartó al finalizar la aplicación de la vacuna con cada niño (Fig. 1) Cada preparación líquida de 10 dosis se aplica en forma continua (un niño inmediatamente después del anterior con el aparato funcionando constantemente) y se descarta el sobrante.

Vacuna administrada por vía subcutánea

Los niños que recibieron una dosis estándar de la preparación parenteral se les aplicó 0.5 ml de vacuna liofilizada reconstituida, inyectada en forma subcutánea en la cara externa de la región deltoidea del brazo derecho.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

POBLACIÓN DE ESTUDIO

La población de estudio comprendió niños sanos de 12 meses \pm 4 semanas de edad residentes de la población de Cuernavaca, Morelos que fueron reclutados de abril a diciembre del 2001. El propósito de éste estudio fue ampliamente explicado a los padres o tutores de los niños. Se obtuvo una forma de consentimiento por escrito de los padres o tutores aprobado por el Comité de Ética de las 3 instituciones.

CRITERIOS DE INCLUSION

Niños sanos de 12 meses \pm 4 semanas de edad

No haber recibido vacuna de sarampión previamente.

No tener historia sugestiva de posible infección por sarampión.

Residentes de la ciudad de Cuernavaca, Morelos.

CRITERIOS DE EXCLUSION

Alergia a los componentes de la vacuna.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Niños a quienes no fue posible tomar la muestra de sangre 3 meses después de la vacunación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

VARIABLES

Variable independiente:

- 1) Vacuna Edmonston Zagreb anti-sarampionosa (dosis estándar) vía aerosol o subcutánea

Definición conceptual: Antígeno de sarampión de la cepa Edmonston-Zagreb que produce una respuesta inmune humoral y celular administrada por vía aerosol o vía subcutánea

Definición operacional: Vacuna contra sarampión cepa Edmonston-Zagreb producida por el Instituto Nacional de Virología aplicada por medio de aerosol con el método del Dr. Fernández de Castro; y por vía subcutánea mediante la inyección con jeringa de insulina de 0.5 ml de vacuna liofilizada reconstituída con solución inyectable aplicada en la cara externa la región deltoidea del brazo izquierdo.

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

TRABAJOS CON
ORIGEN

Variables dependientes:

1) Inmunidad mediada por células

Definición conceptual: Sistema de defensa mediada por células T de memoria expuestas a un antígeno.

Definición operacional: Número de células T que responden al estímulo antigénico con la vacuna de sarampión. Se midió por medio de la técnica de linfoproliferación con timidina tritiada. Se obtuvo el índice de estimulación dividiendo la media de las cuentas por minuto (cpm) de las células estimuladas con antígeno entre la media de cpm de las células estimuladas con control, considerándose un índice ≥ 3 como positivo.

Escala de medición: Cuantitativa continua y cualitativa dicotómica

Categoría: Media de cada grupo y Positivo ($IE \geq 3$) o negativo ($IE < 3$)

2) Inmunidad humoral.

Definición conceptual: Sistema de defensa del cuerpo mediada por anticuerpos y factores solubles.

Definición operacional: Titulaciones de anticuerpos IgG por medio de la técnica de neutralización en placa del Dr. Bellini para sarampión. Se calcularon los títulos medios geométricos (tmg) de anticuerpos y el porcentaje de seroconversión.

Escala de medición: Cuantitativa continua y cualitativa dicotómica.

Categoría: Título medio geométrico para cada grupo y porcentaje de seroconversión (aumento de por lo menos 4 veces el título basal de anticuerpos: seroconversión o no seroconversión)

TESIS CON
DE ORIGEN

3) Efectos clínicos adversos

a. Variable: Fiebre

Definición conceptual: Síndrome caracterizado por aumento de la temperatura corporal, taquicardia y taquipnea.

Definición operacional: Se midió la temperatura axilar en cada visita a los niños por las enfermeras y se registró si los padres tomaron la temperatura de los niños en caso de que presentaran fiebre. Se consideró presencia de fiebre en aquellos niños que tuvieran temperatura axilar $\geq 38^{\circ} \text{C}$ en una toma.

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

b. Variable: Rinorrea

Definición conceptual: Secreción nasal mucosa.

Definición operacional: Presencia de moco transparente por narinas en el período de 14 días posteriores a la vacunación.

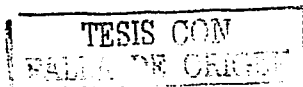
Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

c. Variable: Tos

Definición conceptual: Exhalación brusca por la boca como resultado del aumento de presión a nivel de la epiglotis

Definición operacional: Presencia de tos en cualquier momento del día durante los 14 días posteriores a la vacunación.



Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

d. Variable: Exantema

Definición conceptual: Enfermedad eruptiva, que consiste en la presencia de pápulas finas eritematosas, confluentes en la piel.

Definición operacional: Las enfermeras realizaron exploraciones físicas en sus visitas a los niños y se registró la presencia de exantema en el periodo posterior a la vacunación.

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

e. Variable: Conjuntivitis

Definición conceptual: Inflamación de la conjuntiva

Definición operacional: Presencia de ojos rojos, llorosos, y/o ardor en los ojos posterior a la vacunación, durante un periodo de 14 días.

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

f. Variable: Diarrea

Definición conceptual: Evacuación intestinal frecuente, líquida y abundante.

Definición operacional: Presencia de evacuaciones disminuidas de consistencia, con aumento de la frecuencia y la cantidad, posterior a la vacunación durante un periodo de 14 días.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

g. Variable: Artralgias

Definición conceptual: Dolor en las articulaciones.

Definición operacional: Presencia de dolor articular en el periodo de 14 días posterior a la vacunación.

Escala de medición: Cualitativa dicotómica

Categoría: Presente, ausente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

El reclutamiento de los pacientes se realizó por un grupo de enfermeras del Instituto Nacional de Salud Pública quienes hicieron visitas domiciliarias, ubicando a los niños de 12 meses \pm 4 semanas de edad de acuerdo a los nacimientos registrados en los libros del Registro Civil. Los niños fueron distribuidos en forma aleatoria para recibir una dosis subcutánea o en aerosol de la vacuna de sarampión. Se administró vacuna de sarampión EZ en aerosol o liofilizada estándar de la misma potencia a los niños participantes. Se les tomaron muestras de sangre (3-5 ml) por venopunción antes de la vacunación y 12 semanas después de la vacunación.

La enfermera realizó visitas a cada paciente en su casa durante 14 días (cada 3er. día) y a los 30 días después de la inmunización. En cada visita se tomó la temperatura axilar, se realizó una exploración física y se obtuvo información de los padres acerca de las reacciones adversas: fiebre, rinitis, tos, exantema, conjuntivitis, diarrea, artralgias u otros síntomas. Las enfermeras guardaron los expedientes con anotaciones de cada niño en el INSP. Estos expedientes incluyen las formas de consentimiento e información clínica acerca de los participantes del estudio en las visitas a las casas. La edad materna en el momento del parto y la falta de inmunización previa con sarampión o la historia de enfermedad fueron anotadas. Se pidió a los padres que notificaran a las enfermeras del INSP en forma inmediata en caso de que el niño presentara exantema, fiebre o cualquier reacción secundaria durante las 12 semanas después de la inmunización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se reclutaron 147 niños, de los cuales 33 fueron excluidos del estudio quedando un total de 114 niños que fueron incluidos en el análisis. De estos 33, 22 no recibieron la vacuna inicial debido a que no quisieron las madres o fueron vacunados durante las Campañas Nacionales de Vacunación, los 11 niños restantes si recibieron la vacuna, pero no se obtuvo una 2ª muestra sanguínea: 8 niños recibieron la vacuna MMR durante la Campaña Nacional de Vacunación antes de obtenerse la 2ª muestra sanguínea, 2 muestras se perdieron durante su transportación y procesamiento y un niño fue retirado del estudio por que la madre se rehusó a continuar participando en el estudio antes de la toma de la 2ª muestra.

Estudios de laboratorio

Se colectaron muestras de sangre antes y 12 semanas después de la inmunización. Se obtuvo un tubo heparinizado con 2- 4 ml de sangre total para los estudios de células T y otro tubo sin anticoagulante para obtener el suero del paciente para pruebas serológicas. En algunos pacientes en quienes se obtuvieron suficientes células T, se determinaron niveles de IFN γ en el sobrenadante de mononucleares de sangre periférica (MNSP) estimulados con antígeno de sarampión. Los especímenes fueron enviados desde Cuernavaca al laboratorio de Infectología, Microbiología e Inmunología Clínicas del Departamento de Medicina Experimental, UNAM.

a) Ensayos de inmunidad mediada por células. Los ensayos de proliferación de células T fueron realizados en el laboratorio de Infectología,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Microbiología e Inmunología Clínicas del Departamento de Medicina Experimental, UNAM en México, D.F.

Los mononucleares de sangre periférica (MNSP) se separan de la sangre completa por medio de un gradiente de densidad con Ficoll-Hypaque y se colocan en placas de 96 micro pozos a concentraciones de 3.0×10^5 /pozo en RMPI 1640 (Gibco, Gaithersburg, MD) y suero humano normal al 10% (Sigma, St. Louis, MO). El antígeno de sarampión preparado de lisados de células Vero infectadas, o un preparado de células no infectado como control se agregan a concentraciones de 1:8, 1:16 y 1:32 en pozos por triplicado. La proliferación de células T se mide después de 5 días de incubación añadiendo ^3H -timidina ($2.5 \mu\text{Ci/pozo}$) por 6-18 horas. Se cosechan las células en papel filtro y se realiza el conteo de las cuentas por minuto (cpm). El índice de estimulación (IE) se calcula como la media de las cpm en los pozos estimulados con antígeno de sarampión divididos entre la media de cpm en los pozos control. Un IE positivo para sarampión es ≥ 3.0 , con base en estudios previos^{47-49, 53-55}. Se utiliza fitohematoglutina (Difco, Detroit, MI) como control mitógeno positivo para respuesta a antígenos, con el fin de detectar supresión no específica de la inmunidad celular asociada a la vacunación con sarampión.

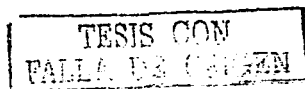
b) Ensayos de anticuerpos neutralizantes contra sarampión. El suero se guardó a -70°C y se mandó al laboratorio en la Universidad de Stanford, California. De ahí fueron enviados al laboratorio de la Dra. Judy Beeler en la División de productos virales, Food and Drug Administration, U. S. A. para su procesamiento. Las 2 muestras secuenciales antes y después de la vacunación

TESIS CON
VIAJE DE ORIGEN

se corrieron en paralelo y se midieron anticuerpos neutralizantes utilizando un ensayo de neutralización de reducción en placa (NRP) ⁵⁶.

Se realizaron diluciones seriadas de 4, empezando en 1:4 de suero inactivado con calor (56° C por 30 minutos) y se mezclaron con un volumen igual de una cepa de bajo pase de sarampión que contuviera 25-35 unidades formadoras de placa. Cada dilución se incubó por duplicado en placas de 24 pozos de plástico con monocapas de células Vero por 1 hora 45 minutos a 36° C en ambiente al 5% de CO₂. Un suero de referencia calibrado contra la referencia internacional se incluyó por duplicado en cada corrida. El título de NRP se define como la dilución del suero que reduce el número de placas en un 50%. Los títulos <1:4 son considerados negativos, y se asigna un valor de 1:2 para fines estadísticos. Un título de NRP de 1:120 mUI ha mostrado previamente que neutraliza la infección por lo que se utiliza como un título seroprotector ⁵⁷. La seroconversión se define como un título >1:8 en sujetos que no tienen título detectable antes de la vacunación, o como un aumento de 4 veces en el título de anticuerpos después de que los niveles previos a la vacunación son corregidos para la caída de los anticuerpos adquiridos en forma pasiva, basados en la vida media de 4 semanas.

c) Ensayos de Interferón gamma. En aquellos niños cuyas muestras fueron suficientes para montar ensayos de citocinas, se colectaron los sobrenadantes de los MNSP estimulados con antígeno de sarampión los días 5 y 7. Estos fueron guardados a -70°C y posteriormente se midieron los niveles de IFN γ por medio del método de ELISA (Biosource International, Inc. Camarillo, Ca.).



Se agregan estándares de concentraciones de IFN γ ya conocidas y los sobrenadantes de MNSP estimulados con antígeno por duplicado a pozos de micro placas previamente cubiertos con un anticuerpo monoclonal específico para IFN γ . Después de la primera incubación, el IFN γ se une simultáneamente por un lado al anticuerpo pegado a la placa y por otro lado a un anticuerpo biotinilado. Después de remover el exceso del 2º anticuerpo, se agrega estreptavidina-peroxidasa, la cual se une al anticuerpo biotinilado completando un sándwich de 4 componentes. Después de una 2ª incubación y lavado se agrega un substrato para producir color. La intensidad de este color es directamente proporcional a la concentración de IFN γ presente en los estándares.

El pico en la concentración de IFN γ se utilizó para análisis de datos.

Análisis estadístico

a) Tamaño de la muestra. Para el cálculo del tamaño de la muestra se determinó una Δ de ± 1 con base en estudios previos ⁴⁷.

Se calculó un total de 120 niños para ser reclutados en el estudio. Este tamaño de muestra permitió detectar equivalencias entre las respuestas mediada por células y humoral entre los que reciben la vacuna en aerosol y parenteral con $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.1$ y 90% de poder ⁵⁸. El tamaño de la muestra se calculó para permitir un 20% de abandono.

$$\frac{2 \times 2.2^2}{1^2} (1.96 + 1.28)^2 = 101$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

b) Métodos. Para determinar la respuesta inmune humoral, los recíprocos de los títulos de NRP se transformaron, se calcularon los títulos medios geométricos (TMG). Las diferencias entre los títulos de anticuerpos entre grupos fueron evaluados mediante la prueba de U de Mann-Whitney. Los porcentajes de seroconversión fueron evaluados por medio de chi cuadrada. Para la inmunidad celular, se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar normalidad en las muestras; por ser no normales, se utilizaron como medidas centrales y de dispersión medianas y percentiles 25 y 75. Los IE en pacientes individuales antes y después de la vacunación se compararon utilizando la prueba U de Mann-Whitney. Los porcentajes de IE positivo en cada grupo se compararon utilizando Chi cuadrada. Los niveles de IFN γ se compararon mediante t de Student. La significancia estadística se definió como una $p \leq 0.05$ para todos los análisis que se llevaron a cabo. Las variables a analizar incluyeron comparación entre cohortes de vacuna en aerosol contra vacuna subcutánea de: desarrollo de una respuesta sérica detectable, títulos de anticuerpos seroprotectores (NRP ≥ 120), IE ≥ 3.0 , correlación de respuestas humoral y mediada por células en cada cohorte.

CONSIDERACIONES ETICAS

Este estudio fue aprobado por el Comité de Sujetos Humanos de la Universidad de Stanford (M1272), el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública. Se realizó un consentimiento informado de acuerdo a los lineamientos de las 3 instituciones que fue aprobado por las tres instituciones.

TESIS CON
LIBRE DE ORIGEN

Al final del estudio se aplicó la vacuna triple viral contra sarampión, paperas y rubéola (MMR) a todos los participantes del estudio.

RECURSOS

Este estudio fue financiado por el National Institute of Allergy and Infectious Diseases (A137127), National Institute of Child Health and Human Development (HD01310, and HD33698) en el proyecto "Ontogeny of measles immunity" y por Fogarty International Center en el "Programa de entrenamiento en enfermedades infecciosas emergentes y re-emergentes".

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 114 niños. Cincuenta y nueve niños recibieron vacuna de sarampión por vía aerosol y 55 por vía subcutánea. La distribución por género y características antropométricas no mostraron diferencias estadísticas (Tabla 2).

Respuesta inmune celular

En ambos grupos se midió la respuesta celular antes y 12 semanas después de la inmunización. El porcentaje de IE positivo ($IE \geq 3$) fue de 72% en los niños que recibieron aerosol y de 87% en los niños del grupo de vacuna subcutánea. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.06$) (poder de la prueba $< 80\%$ para proporciones) (Fig.2). Sin embargo al comparar la mediana del IE del grupo de aerosol de 4.51 (p 25-75 2.94 -7.83) con la del grupo subcutáneo mediana 6.18 (p 25-75 3.90 - 10.87) si se encontraron diferencias estadísticamente significativas, a favor de la vía subcutánea ($p = 0.02$) (poder de la prueba 80% para medias) (Fig. 3).

En aquellos niños de quienes se obtuvieron suficientes MNSP, se midió la producción de $IFN\gamma$ por las células T antes y después de la vacunación, en 14 niños del grupo aerosol y 13 del grupo subcutáneo. Los resultados no mostraron diferencias entre las medias de los grupos (grupo aerosol: 5.93 ± 3.18 pg/ml antes y 116.68 ± 76 pg/ml después de la vacunación vs. grupo subcutáneo: 9.14 ± 6.70 pg/ml antes y 97.1 ± 65.5 pg/ml, después de la vacunación, $p = 0.48$) (poder de la prueba 80%) (Fig. 4)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Respuesta inmune humoral

Los títulos medios geométricos mostraron diferencias significativas. En el grupo de vacuna en aerosol fueron de 237 mUI (IC-95%146-385) y en el grupo de vacuna subcutánea 487 mUI (IC-95% 390-609) ($p=0.005$) (Fig. 5). El porcentaje de niños que presentaron seroconversión fue de 91% en el grupo de vacuna en aerosol vs. 100% en el grupo de vacuna subcutánea ($p = 0.03$). El porcentaje de niños del grupo aerosol cuyos TMG fueron $> 1:120$ después de la inmunización fue de 77.5% (45 de 59) comparado con 94.5% (52 de 55) de aquellos del grupo de vacuna subcutánea ($p = 0.01$). Cuando se excluyeron los niños que no presentaron seroconversión, los TMG fueron 422 mUI para el grupo aerosol, que no fueron significativamente diferentes de los TMG del grupo subcutáneo, 497 mUI ($p = 0.90$).

Inducción de la inmunidad adaptativa

Se analizaron los TMG y su relación con el IE en cada niño, se encontraron 4 patrones de respuesta (tabla 3):

- 1) Niveles de anticuerpos protectores (>120 mUI) e IE positivos (>3) en 82 niños (72% del total de ambos grupos): 40 (68%) en el grupo de aerosol y 47 (85%) del grupo subcutáneo.
- 2) Niveles de anticuerpos ausentes o no protectores (<120 mUI) con IE negativos (<3) en 8 niños (7% del total de ambos grupos). Todos recibieron la vacuna de sarampión en aerosol, 13.5% en el grupo aerosol y 0 en el grupo subcutáneo.

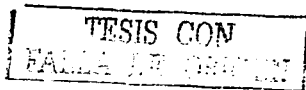
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 3) Niveles de anticuerpos protectores (>120 mUI) con IE negativos (<3) en 15 niños (13% del total): 8 recibieron la vacuna en aerosol (13.5% del grupo aerosol) y 7 la vacuna subcutánea (13% del grupo subcutáneo).
- 4) Niveles de anticuerpos no protectores (<120 mUI) con IE positivos (>3) en 9 niños (8% del total de ambos grupos): 6 recibieron la vacuna por vía aerosol (10% del grupo aerosol) y 3 por vía subcutánea (5% del grupo subcutáneo).

En general, se observó una respuesta adaptativa en la inmunidad en 51 de 59 niños (86%) en el grupo aerosol, y en 55 de 55 niños (100%) en el grupo de vacuna subcutánea ($p = 0.004$).

Efectos temporalmente asociados a vacunación

La tolerabilidad y seguridad de la vacuna de sarampión por ambas vías, fue evaluada comparando los registros obtenidos por las enfermeras que visitaron a los niños cada 3^{er} día por un periodo de 14 días y al día 30 después de la vacunación. Los efectos temporalmente asociados a vacunación (fiebre, rinitis, tos, exantema, diarrea, artralgias y otros) fueron equivalentes en ambos grupos, excepto hiperemia conjuntival y/o lagrimeo. Este síntoma fue más frecuente en el grupo de aerosol (57% vs. 35% $p = 0.01$) (Tabla 4). La hiperemia conjuntival y/o lagrimeo se presentó dentro de los primeros 14 días variando desde 12% a 19% en los niños del grupo de vacuna en aerosol y desde 7% a 14% en los niños del grupo de vacuna subcutánea. Ninguno ameritó tratamiento. Se reportó fiebre a las enfermeras, pero no siempre se cuantificó, se presentó los días 2 a 5 y 9 a 14 con una variación del 2% a 7% de los niños en el grupo de vacuna subcutánea, y los días 1 a 7 y 9 a 13 en 1% a 5% de los niños en el grupo de aerosol.



DISCUSIÓN

La respuesta inmune humoral en niños que reciben la vacuna de sarampión en aerosol ha sido demostrada en diversos estudios clínicos. Los porcentajes de seroconversión varían de estudio a estudio, pero en general se reporta de 40% a 100% ²⁷⁻⁴⁰.

Respuesta inmune celular

El porcentaje de niños en cada cohorte que desarrollo una respuesta específica de células T no fue significativamente diferente entre el grupo aerosol (72%) y el grupo subcutáneo (87%), sin embargo el poder de la prueba fue menor de 80% por lo que probablemente al aumentar el tamaño de la muestra se hubieran detectado diferencias, además la mediana fue mayor en el grupo subcutáneo. En estudios previos se ha reportado un 65% de respuestas específicas de células T en niños que reciben la vacuna de sarampión (Attenuvax - cepa Moraten) a los 12 meses de edad ⁴⁹. En el presente estudio, la observación de que 87% de los niños que recibieron la vacuna Edmonston-Zagreb presentaron una respuesta de proliferación de células T específica contra sarampión representa el mayor porcentaje de respuesta inmune que ha sido reportado después de la inmunización con sarampión ^{47, 48, 50, 51, 54}. La relación entre la magnitud de la respuesta de proliferación de células T específica contra sarampión y la eficacia de la vacuna de sarampión no se conoce. Sin embargo, la detección de una respuesta inmune mediada por células en respuesta a sarampión en 72% de los niños de 12 meses de edad que recibieron la vacuna Edmonston-Zagreb por la vía aerosol es mayor que los estudios previos con otras

vacunas de eficacia bien comprobada como Attenuvax, cuando se da en forma subcutánea ^{47, 49}. Las concentraciones de IFN- γ liberado por células T estimuladas con antígeno de sarampión in vitro no fueron diferentes cuando se midió ésta citocina en un subgrupo de cada uno de los grupos para medir la inmunidad específica de células T contra sarampión.

Respuesta inmune humoral

El porcentaje de seroconversión fue de 91% en el grupo aerosol, que es comparable con porcentajes previamente descritos al aplicar la vacuna de sarampión en aerosol ²⁷⁻⁴⁰. Sin embargo, la seroconversión en niños que se les aplicó la misma vacuna por la vía subcutánea fue de 100%. Los TMG contra sarampión fueron mayores en el grupo de vacuna subcutánea, y 94% de los niños en quienes se aplicó la vacuna subcutánea tuvieron títulos $\geq 1:120$ a las 12 semanas después de la inmunización comparado con 77.5% en el grupo aerosol. La menor respuesta en el grupo aerosol puede ser explicada por una diferencia en la dosis efectiva. Por la vía subcutánea se administran $10^{4.27}$ pfu, mientras que por vía aerosol se administra una dosis de $10^{3.6}$ pfu con una dosis retenida estimada de 995 pfu cuando la vacuna se administra en forma de aerosol. El alto índice de seroconversión después de la administración subcutánea de la vacuna de sarampión es esperada, ya que la dosis mínima que produce inmunización en individuos susceptibles con vacuna de sarampión de virus vivos atenuados es de 10 a 20 TCID₅₀ ⁵⁹. Basados en estos resultados los niños que reciben la vacuna por vía subcutánea recibieron 1000 veces la dosis inmunizante mientras que los

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

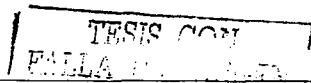
niños que recibieron la vacuna en aerosol recibieron 10 veces la dosis inmunizante. En contraste, Sabin reportó 100% de seroconversión en niños de 12 meses que recibieron la vacuna en aerosol, pero estos niños recibieron una dosis de 10^4 pfu por 0.1 ml de dosis inhalada con una dosis estimada retenida de 1,750 pfu³⁰.

Inducción de respuesta adaptativa a la vacuna de sarampión

Al realizar el análisis de los títulos de anticuerpos y su relación con el índice de estimulación se encontraron 4 patrones de respuesta inmunológica:

Primero; una respuesta de anticuerpos nula o no protectora, con respuesta celular negativa. Esta respuesta se encontró en 9 niños que corresponde al 8% del total y de éstos el 100% recibieron la vacuna por vía aerosol. Este hallazgo puede estar sugiriendo que hay inconsistencias en la administración de la vacuna por lo que no está siendo efectiva para inmunizar al 100% de los niños. La ausencia de respuesta humoral y/o celular sugiere que el virus nunca tuvo contacto con el sitio blanco de la respuesta inmune, y es posible que con otro aparato para administrar el aerosol se pudiera asegurar en forma más fidedigna la aplicación de la dosis (por ejemplo: una jeringa de aplicación nasal que produzca un aerosol lo suficientemente pequeño para llegar a los alvéolos, disminuiría el espacio muerto y la cantidad de biológico que se pierde por el aerosol). Otra posibilidad es que sean necesarias dosis más altas del inmunógeno para obtener una respuesta comparable a la administración subcutánea.

Segundo; una respuesta humoral con títulos protectores de anticuerpos, con respuesta celular negativa. Esta respuesta se encontró en 15 niños que



corresponde al 13% del total, de los cuales 7 recibieron la vacuna por vía subcutánea y otros 8 por vía aerosol. Este es un patrón de respuesta que ha sido descrita en estudios previos en niños que se han vacunado con la vacuna de sarampión por vía subcutánea y en los que se detecta en mayor proporción la respuesta humoral que la celular ^{47, 48, 50, 51, 53}. Este patrón puede ser atribuido a la dificultad de detectar células T CD4+ específicas contra sarampión en la sangre periférica de algunos vacunados, más que a una falla para desarrollar una respuesta inmune de células T específica.

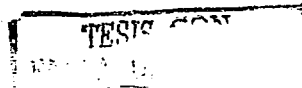
Tercero, respuesta de anticuerpos no protectores, con respuesta celular positiva. Esta respuesta se encontró en 9 niños que corresponde al 8% del total, 6 de los cuales recibieron la vacuna por vía aerosol y 3 por vía subcutánea. Un pequeño número de reportes de casos y datos epidemiológicos limitados sugieren que algunos individuos están protegidos de la enfermedad natural aun con niveles bajos o indetectables de anticuerpos en el momento de la exposición ^{21, 60}. Hay evidencias que señalan que en algunas personas que son vacunadas contra sarampión puede haber una respuesta celular mayor o más duradera en ausencia de una respuesta humoral ⁵⁰. La protección a largo plazo en presencia de inmunidad celular y ausencia de inmunidad humoral no se conoce, pero se ha sugerido que la respuesta celular juega un papel importante en la defensa del huésped contra gérmenes intracelulares, incluyendo virus ⁶¹. Es probable que individuos con éste patrón tengan protección contra sarampión a pesar de tener títulos bajos de anticuerpos. Desafortunadamente en el presente estudio, el número de niños con este patrón es muy pequeño y no permite derivar conclusiones de las diferencias encontradas en torno a la vía de vacunación.

Cuarto, respuesta de anticuerpos protectora con respuesta celular positiva. Esta respuesta se encontró en 82 niños que corresponde al 72% del total. Este patrón de respuesta sugiere que se está estimulando tanto la respuesta Th1 como la respuesta Th2 al antígeno vacunal, en mayor proporción en el grupo subcutáneo (82%) que el grupo aerosol (63%) respectivamente.

Este estudio mostró 4 patrones de respuesta inmune siendo la más frecuente la inducción de ambas vías tanto humoral como celular. La ausencia de respuesta tanto humoral como celular solo se presentó en la vía aerosol. En un menor porcentaje solo respuesta humoral y en un muy pequeño porcentaje solo respuesta celular. Aun cuando todavía no sabemos el papel de la inmunidad celular en la protección contra la enfermedad a largo plazo, éste estudio sugiere que la medición de la respuesta celular es útil en la evaluación de la respuesta inmune a la vacuna de sarampión.

Este estudio provee el primer análisis de la respuesta inmune celular a la administración de la vacuna de sarampión en aerosol como dosis primaria. Muestra que la administración de la vacuna por vía aerosol induce células T específicas contra sarampión en niños, sin embargo la respuesta es mayor con la vacuna por vía subcutánea.

Esta diferencia puede ser debida a que la vacuna en aerosol es inhalada aproximadamente en un 25%, por lo que la dosis efectiva es menor. Es probable que sea necesaria una dosis mayor para inducir una respuesta inmune equivalente a la vacuna subcutánea.



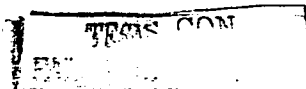
Efectos temporalmente asociados a vacunación

No se observaron diferencias en los efectos temporalmente asociados a la vacunación con la administración de la vacuna por ambas vías, a excepción de hiperemia conjuntival y/o lagrimeo que fue más frecuente en el grupo de vacuna en aerosol. La mayor frecuencia de éste síntoma podría deberse al tipo de aplicación de la vacuna, que al aplicarse en aerosol por la proximidad a los ojos pudiera estar inoculándose parte en los ojos y causar la irritación.

Este hallazgo difiere con lo reportado en la literatura por otros grupos que han estudiado esta vía de administración de la vacuna, en donde los efectos colaterales que se han encontrado son principalmente fiebre, tos y exantema^{28, 30, 31, 62}. En general se concluye que ésta vía de administración es bien tolerada.

Finalmente, los resultados del presente estudio demostraron que se inducen respuestas de células T y/o respuestas humorales con niveles protectores de anticuerpos en la mayoría de los niños que reciben la vacuna en aerosol. Las ventajas principales de la vía de administración en aerosol podrían estar encaminadas a si es útil para inmunizar a niños menores de 12 meses de edad en donde la presencia de anticuerpos pasivos no permite una adecuada respuesta inmune al aplicar la vacuna por vía subcutánea. Esta pregunta está siendo explorada por nuestro grupo de investigación en niños de 9 meses de edad, en quienes hay presencia de anticuerpos pasivos maternos. La vacuna de sarampión administrada por vía aerosol puede tener ventajas prácticas (vacunación masiva, evita uso de jeringa y aguja, disminuye el riesgo de infecciones adquiridas por inyecciones) pero aun se necesita mayor evaluación.

En resumen, encontramos que la vacuna de sarampión administrada por vía aerosol es inmunogénica en la mayoría de los niños, aun cuando en general las respuestas fueron menores que aquellas producidas por la vacunación subcutánea. Sin embargo, los patrones de inmunidad humoral y mediada por células que fueron observados, sugieren que las limitaciones en la inmunogenicidad por la vacunación con sarampión en aerosol, comparadas con la vacunación subcutánea podrían ser mejoradas por modificaciones técnicas, como incrementar la potencia de la vacuna o mejorar el aparato de aerosol. Demostramos por primera vez que la administración por mucosas de la vacuna de sarampión induce células T CD4+ específicas contra sarampión. Este estudio provee evidencia que sugiere que la vacuna de sarampión de virus vivos atenuados Edmonston-Zagreb puede inducir inmunidad celular en un mayor porcentaje que otras vacunas de sarampión reportadas en la literatura.



CONCLUSIONES

La vacuna de sarampión administrada por vía aerosol induce respuestas de células T y respuestas humorales en la mayoría de los niños vacunados.

Se observaron 4 patrones de respuesta inmunológica, siendo uno de ellos solo respuesta celular. La respuesta inmune celular es una herramienta útil para evaluar la inmunogenicidad a las vacunas.

La respuesta inmune se produce en menor grado por la vía de administración en aerosol que la vía subcutánea en niños de 12 meses de edad que reciben la vacuna de sarampión como dosis primaria.

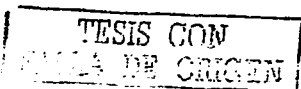
Esta menor respuesta puede ser explicada por la dosis efectiva menor que recibe el grupo aerosol. Es probable que sea necesaria una mayor dosis de la vacuna administrada en aerosol para obtener equivalencia a la vacuna subcutánea como dosis primaria en la respuesta inmune.

BIBLIOGRAFÍA

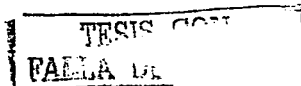
- 1) Feigin RD, Cherry JD. Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Ed WB Saunders Company. 4a. edición, 1998. pp: 2054-2074.
- 2) Division of Microbiology and Infectious Diseases, National Institutes of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health. The Jordan Report. Accelerated Development of Vaccines 1998.
- 3) World Health Organization. Global measles mortality reduction and regional elimination. WHO Weekly epidemiological record. 2002;77(7):49-56.
- 4) Aaby P, Clements J and Orinda V. Mortality from measles: measuring the impact. In Expanded Programme on Immunization. W. H. Organization, ed. Geneva. 1991.
- 5) Aaby P, Bukh J, Kronborg D, Lisse IM and da Silva MC. Delayed excess mortality after exposure to measles during the first six months of life. Am J Epidemiol 1990;132:211-9.
- 6) Clements CJ, Cutts FT. The epidemiology of measles: thirty years of vaccination. Curr Top Microbiol Immunol 1995;191:13-33.
- 7) Cherry JD. Measles. 1992, Saunders, Philadelphia.
- 8) Nokes DJ, Anderson RM. Measles, mumps and rubella vaccine: what coverage to block transmission? Lancet 1988;2:1374.
- 9) Centers for Disease Control and Prevention. Measles Eradication: Recommendations from a Meeting cosponsored by the World Health Organization, the Pan American Health Organization, and CDC. MMWR 1997;46(RR-11):1-20.

TESIS CON
FALLA DE CALIFICACION

- 10) Fernández de Castro J, Kumate J. La vacunación contra el sarampión. Situación en México y América. Avances en el método de inmunización por aerosol. Bol Med Hosp Infant Mex 1990;47(7):449-461.
- 11) Santos José Ignacio. El Programa Nacional de Vacunación: orgullo de México. Rev Fac Med UNAM 2002;45(3):142-153.
- 12) Casos de notificación inmediata y semanal. Boletín de Epidemiología. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. EPIDEMIOLOGIA. 2-8 Junio, 2003; Semana 23, pp. 3.
- 13) Krugman S, Giles JP, Friedman H et al. Studies on immunity to measles. J Pediatr. 1965;66:471-488.
- 14) Graves M, Griffin DE, Jonson RT et al. Development of antibody to measles virus polypeptides during complicated and uncomplicated measles virus infections. J Virol 1984;49:409-412.
- 15) Krugman S. Present status of measles and rubella immunization in the United States: A medical progress report. J Pediatr 1977;90:1-12.
- 16) Forghani B, Myoraku CK and Schmidt NJ. Use of monoclonal antibodies to human immunoglobulin M in "capture" assays for measles and rubella immunoglobulin M. J Clin Microbiol 1983;18:652-657.
- 17) Tuokko H and Salami A. detection of IgM antibodies to measles virus by enzyme-immunoassay. Med Microbiol Immunol. 1983;171:187-198.
- 18) Mathiesen T, Hammarstrom L, Fridell E et al. Aberrant IgG subclass distribution to measles in healthy seropositive individuals, in patients with SSPE and in immunoglobulin-deficient patients. Clin Exp Immunol 1990;80:202-205.



- 19) Griffin DE, Ward BJ and Esolen LM. Pathogenesis of measles virus infection: An hypothesis for altered immune responses. J infect Dis 1994;170(Suppl 1):S24-S31.
- 20) Ward BJ, Johnson RT, Vaisberg A et al. Spontaneous proliferation of peripheral mononuclear cells in natural measles virus infection: Identification of dividing cells and correlation with mitogen responsiveness. Clin Immunol Immunopathol. 1990;55:315-326.
- 21) Ruckdeschel JC, Graziano KD, Mardiney Jr. MR. Additional evidence that the cell-associated immune system is the primary host defense against measles (rubeola). Cell Immunol 1975;17:11-18.
- 22) Good RA and Zak SJ. Disturbances in gamma globulin synthesis as "experiments of nature". Pediatrics. 1956;18:109-149.
- 23) Black FL, Sheridan SR. Studies on an attenuated measles-virus vaccine. IV. Administration of vaccine by several routes. N Engl J Med 1960;263:165-9.
- 24) Simasathien S, Migasena s, Bellini W, Samakoses R, Pitisuttitham P, Bupodom W, Heath J, Anderson L, Bennett . Measles vaccination of Thai infants by intranasal and subcutaneous routes: possible interference from respiratory infections. Vaccine 1997;15:329-33.
- 25) Whittle H, Rowland MGM. Failure of measles vaccine sprayed into the oropharynx of infants. Lancet 1983;1045.
- 26) Ogra PL, Fishaut M, Gallagher MR. Viral vaccination via the mucosal routes. Rev Infect Dis 1980;2(3):352-369.
- 27) Cutts FT, Clements J, Bennett JV. Alternative routes of measles immunization: a review. Biologicals. 1997;25:323-338.



- 28) Fernández de Castro J, Kumate-Rodríguez J, Sepúlveda J, Ramírez-Isunza JM, Valdespino-Gómez JL. La vacunación antisarampionosa en México por el método de aerosol. *Salud Pública de México* 1997;39(1):53-60.
- 29) Teskikh II, Danilov AI, Shchelchov GI, Fadeeva LL, Khaletskaja E. Theoretical substantiation and effectiveness of immunization with aerosols of liquid measles vaccines [NIH library 80-439 translation from Russian]. *Vestn Akad Med Nauk SSSR* 1971;26:84-90.
- 30) Sabin AB, Arechiga AM, Fernández de Castro J, Sever JL, Madden DL, Shekarchi I, Albrecht P. Successful immunization of children with and without maternal antibody by aerosolized measles vaccine. I. Different results with undiluted human diploid cell and chick embryo fibroblast vaccines. *J Am Med Assoc* 1983;249:2651-62.
- 31) Sabin AB, Arechiga AF, Fernández de Castro J, Albrecht P, Sever JL, Shekarchi I. Successful immunization of infants with and without maternal antibody by aerosolized measles vaccine. II. Vaccine comparisons and evidence for multiple antibody response. *J Am Med Assoc* 1984;251:2363-71.
- 32) Sabin AB. Immunization against measles by aerosol. *Reviews Infect Dis* 1983;5:514.
- 33) Sabin AB, Albrecht P, Takeda AK, Ribeiro EM, Veronesi R. High effectiveness of aerosolized chick embryo fibroblast measles vaccine in seven-month-old and older infants. *J Infect Dis*. 1985;152(6):1231-1237.
- 34) Whittle HC, Rowland MGM, Mann GF, Lamb WH, Lewis RA. Immunization of 4-6 month old Gambian infants with Edmonston-Zagreb measles vaccine. *Lancet* 1984;2:834-7.

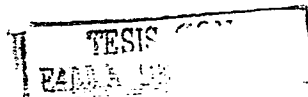
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- 35) Torigoe S, Biritwum RB, Isomura S, Kobune F, Mingle JA, Toba M, Antwi P, Oforu-Amaah S. Measles in Ghana: a trial of an alternative means of administration of measles vaccine. *J Tropical Pediatrics* 1986;32:304-309.
- 36) Fernández de Castro J, Valdespino Gomez JL, Díaz Ortega JL. Diloid cell measles vaccine. *JAMA* 1986;256(6):714.
- 37) Khanum S, Uddin N, Garelick H, Mann G, Tomkins A. Comparison of Edmonston Zagreb and Schwarz strains of measles vaccine given by aerosol of subcutaneous injection. *The Lancet*. 1987:150-153.
- 38) Ekunwe EO. Immunization by inhalation of aerosolized measles vaccine. *Ann Trop Paediatrics*. 1990;10:145-149.
- 39) Dilraj A, Cutts F, Fernandez de Castro J, Wheeler J, Brown D, Roth C, Coovadia H, Bennett J. Response to different measles vaccine strains given by aerosol and subcutaneous routes to schoolchildren: a randomized trial. *Lancet* 2000;355:798-803.
- 40) Sepúlveda-Amor J, Valdespino-Gómez JL, García-García L, Bennett J, Islas-Romero R, Echaniz-Aviles G, Fernández de Castro J. A randomized trial demonstrating successful boosting responses following simultaneous aerosols of measles and rubella (MR) vaccines in school age children. *Vaccine* 2002;20:2790-2795.
- 41) Gindler JS, Atkinson WL, Markowitz LE, Hutchins SS. Epidemiology of measles in the United States in 1989 and 1990. *Pediatr Infect Dis J* 1992;11:841-6.
- 42) Schluederberg A, Lamm SH, Landrigan PJ and Black FL. Measles immunity in children vaccinated before one year of age. *Am J Epidemiol* 1973;97:402-

TRISIC COPY
FALL

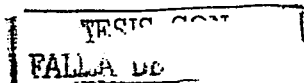
9.

- 43) Shelton JD, Jacobson JE, Orenstein WA, Schulz KF and Donnell HD Jr. Measles vaccine efficacy: influence of age at vaccination vs duration of time since vaccination. *Pediatrics* 1978;62:961-4.
- 44) Yeager AS, Davis JH, Ross LA, Harvey B. Measles immunization. Successes and failures. *JAMA* 1977;237:347-51.
- 45) Maldonado YA, Lawrence EC, DeHovitz R, Hartzell H, Albrecht P. Early loss of passive measles antibody in infants of mothers with vaccine-induced immunity. *Pediatrics* 1995;96:447-50.
- 46) Markowitz LE, Albrecht P, Rhodes P, Demonteverde R, Swint E, Maes EF, Powell C and Patriarca PA. Changing levels of measles antibody titers in women and children in the United States: impact on response to vaccination. Kaiser Permanente Measles vaccine Trial Team. *Pediatrics* 1996;97:53-8.
- 47) Gans H, Arvin A, Galinus J, Logan L, DeHovitz R, Maldonado Y. Deficiency of the humoral immune response to measles vaccine in infants immunized at age 6 months. *JAMA* 1998;280:527-532.
- 48) Gans H, Maldonado Y, Yasukawa L, Beeler J, Rinki M, DeHovitz R, Harbin A. Interleukin 12, Interferon-gamma and T cell proliferation to measles in immunized infants. *J of Immunol* 1999;162:5569-5575.
- 49) Gans H, Yasukawa L, Rinki M, DeHovitz R, Forghani B, Beeler J, Audet S, Maldonado Y, Arvin A. Immune responses to measles and mumps vaccination of infants at 6, 9, and 12 months. *J Infect Dis* 2001;184:817-26.
- 50) Bautista Lopez N, Ward BJ, Mills E, McCormick D, Martel N, Ratnam S. Development and durability of measles antigen-specific lymphoproliferative

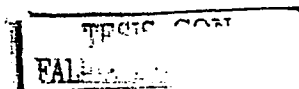


response after MMR vaccination. Vaccine 2000;18:1393-1401.

- 51) Pabst HF, Spady DW, Carson MM, Steffox HT, Krezolek MP et al. Cell mediated and antibody immune responses to Aik-C and Connaught monovalent measles vaccine given to 6 month old infants. Vaccine 1999;17:1910-1918.
- 52) Kane A, Lloyd J, Zaffran M, Simonsen L, Kane M. Transmision of hepatitis B, hepatitis C and human immunodeficiency virases through unsafe injections in the developing world: model-based regional estimates. Bull WHO 1999,77(10):801-807.
- 53) Ward BJ, Boulianne N, Ratnam S, Guiot MC, Couillard M, De Serres G. Cellular immunity in measles vaccine failure: demonstration of measles antigen-specific lymphoproliferative responses despite limited serum antibody production after revaccination. JID 1995;172:1591-1595.
- 54) Gallagher MR, Welliver R, Yamanaka T. Cell mediated immune responsiveness to measles. Am J Dis Child 1981;135:48-51.
- 55) Linneman CC, Dine MS, Roselle GA, Askey A. Measles immunity after revaccination: results in children vaccinated before 10 months of age. Pediatrics 1982;69(3):332-335.
- 56) Albrecht P, Hermann K, Burns GR. Role of virus strain in conventional and enhanced measles plaque neutralization test. J Virol Mehtods. 1981;3:251-260.
- 57) Chen RT, Markowitz LE, Albrecht P. et al. Measles antibody: reevaluation of protective titers. J Infect Dis. 1990;162:1036-1042.
- 58) Jones B, Jarvis P, Lewis A, Ebbut F. Trials to assess equivalence: the



- importance of rigorous methods. *BMJ* 1996;313:36-9.
- 59) Plotkin & Mortimer. *Vaccines*. W. B. Saunders Company. 2ª. Edición, 1994. pp: 229-276.
- 60) Samb B, Aaby P, Whittle HC, Seck AMC, Rahman S, Bennett J, Markowitz L, Simondon F. Serologic status and measles attack rates among vaccinated and unvaccinated children in rural Senegal. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:203-9.
- 61) Roitt I. *Essential Immunology*. Editorial Blackwell Science. 9a. edición, pp:33, 273-4.
- 62) Fernández-Bracho JG, Roldan-Fernández SG. Reacciones tempranas en escolares vacunados con antisarampionosa en aerosol. *Salud Pública Mex* 1990;32:653-6.



ANEXO 1

¿Su hijo (a) está participando en algún otro estudio de investigación? SI __, NO __

DESARROLLO DE DEFENSAS CONTRA SARAMPIÓN EN NIÑOS

1/07/00-1/08/01

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El Instituto Nacional de Salud Pública y los Servicios de Salud de Morelos junto con la Universidad Nacional Autónoma de México están realizando un trabajo con financiamiento de la Universidad de Stanford, Estados Unidos para evaluar la vacuna contra el sarampión. La vacuna que será aplicada es la misma que se aplica por los servicios rutinarios y se administrará por inyección subcutánea en el brazo izquierdo o bien, por el método de aerosol (spray o rocío) sobre las mucosas de la nariz y garganta de su hijo. Cualquiera de las dos formas de administración de la vacuna ya han sido usadas con gran éxito en otros países y también en el nuestro. El objetivo principal de éste trabajo es evaluar si la vacuna en aerosol es tan efectiva como la inyectable para ayudar a erradicar el sarampión de México y de otros países. La aplicación de vacunas en forma de aerosol tiene muchas ventajas porque se evita la inyección y se pueden vacunar a muchos niños a la vez.

Si usted decide que su hijo(a) participe en este trabajo, el Instituto Nacional de Salud Pública se encargará de:

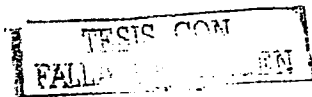
- Realizar una evaluación general de su estado de salud
- Se le aplicará en forma gratuita la vacuna triple viral que lo (a) protegerá contra el sarampión, las paperas y la rubéola
- Recibirá por escrito los resultados de los estudios que se le practiquen a su hijo
- Conocerá su grupo sanguíneo y Rh

El estudio que se realizará en su hijo consiste en la aplicación de la vacuna contra el sarampión ya sea por medio de una inyección o por vía aerosol y la toma de tres muestras sanguíneas de su brazo de aproximadamente una cucharada:

- 1) Momentos antes de aplicarle la vacuna
- 2) A los 3 meses después de haberle aplicado la vacuna
- 3) A los 12 meses después de haberle aplicado la vacuna

La primera muestra es indispensable para conocer el nivel o número de anticuerpos de su hijo(a) antes de aplicarle la vacuna y poder comparar los resultados con las muestras posteriores. La segunda es para saber si el organismo de su niño(a) está respondiendo adecuadamente a la aplicación de la vacuna y la tercera es para saber si su hijo quedó realmente protegido contra el sarampión. El material que se utiliza es nuevo y desechable, exclusivo para cada niño(a).

Si su hijo(a) participa en este trabajo, una enfermera altamente capacitada le hará a usted algunas preguntas para conocer los antecedentes de salud de su hijo(a) y será quien obtenga la muestra sanguínea.



La vacuna contra el sarampión es segura y en cualquiera de sus formas de aplicación solo produce algunas molestias leves (las normales de esta vacuna) tales como: malestar general, dolor de cabeza, tos, calentura leve y en algunos casos puede presentarse una ligera erupción en la piel que se quita sola y no es contagiosa. Algunas complicaciones que pueden surgir de la toma de sangre incluyen dolor temporal en el lugar de la toma y desarrollo de un pequeño moretón.

NOSOTROS NO PODEMOS GARANTIZAR NI PROMETER QUE USTED RECIBIRA ALGUN BENEFICIO ADICIONAL ESPECIFICAMENTE DE ESTE ESTUDIO

Usted será informado si surge algún dato nuevo que pueda afectar la condición de su hijo o influya su deseo de continuar participando en éste estudio. Bajo el criterio del investigador su hijo puede ser retirado del estudio debido a circunstancias no anticipadas. Estas incluyen falla en seguir instrucciones, que la continuación pueda ser dañina para su hijo, que sea necesario tratamiento a su hijo que no se permita en el estudio, el estudio se cancele u otras razones administrativas.

Mientras participa en éste estudio no debe participar en otro proyecto de investigación sin la aprobación de los investigadores de este estudio. Esto es para protegerlo de algún daño que pueda surgir de tomas extra de sangre, rayos x, interacción con medicamentos o algo semejante.

Su participación en este trabajo ayudará a que nuestros niños tengan mejores vacunas y una mejor salud. Su alternativa es no participar. No recibirá ninguna paga por su participación en éste estudio.

Toda la información que usted proporcione sobre la salud de su hijo(a) será confidencial y si usted lo desea podrá retirarse de este estudio en el momento que lo decida sin que ello repercuta en la atención que siempre se le ha brindado por parte de los servicios de salud.

En caso de que tenga alguna pregunta no dude en consultar a la Maestra Rocío Islas Romero al teléfono 3-11-01-11 Ext. 2510 en Cuernavaca Morelos de 9:00 a 18:00 hrs.

Todas las formas de diagnóstico médico y tratamiento –sea rutinario o experimental– involucra cierto riesgo. A pesar de todas las precauciones, su hijo puede desarrollar complicaciones al participar en este estudio. Si estas complicaciones aparecen, los investigadores lo orientaran para obtener tratamiento medico apropiado y le proveerán asistencia financiera para costos médicos adicionales u otros costos.

Los niños como seres humanos tienen derechos. Al participar en este trabajo usted como padre o tutor debe hacer uso entre otros de los siguientes derechos:

- 1) Estar informado de la naturaleza y propósito del trabajo
- 2) Recibir una explicación detallada de los procedimientos que se seguirán durante el desarrollo de éste estudio y sobre cualquier medicamento utilizado
- 3) Recibir una descripción de cualquier molestia o riesgo razonable que pudiera presentarse

ESTA TESIS FUE
DE FALTA DE ORIGEN

- 4) Recibir una explicación de cualquier beneficio razonable que lo pudiera favorecer
- 5) Recibir información acerca de cualquier medida alternativa, así como medicamentos u otro tipo de tratamientos que pudieran ser útiles para el menor, así como de los beneficios y riesgos relativos que conllevan
- 6) Ser informado de las opciones de tratamiento que estén disponibles, en caso de que se presentaran complicaciones
- 7) Que tenga la oportunidad de hacer cualquier pregunta referente al estudio o a los procedimientos involucrados
- 8) Ser informado de que la participación en este trabajo puede ser suspendida en cualquier momento y sin detrimento o perjuicio para el menor
- 9) Que le sea dada una copia de esta forma de consentimiento firmada y fechada.
- 10) Que le sea dada la oportunidad de decidir acerca de su aceptación o negativa a participar en el estudio sin la intervención de fuerza, fraude, mentira, presión, coerción o influencia indebida sobre su decisión.

Su firma indica que ha leído y comprendido el contenido de esta carta, que ha hecho las preguntas que usted consideró oportunas a los investigadores y le han sido respondidas adecuadamente, está de acuerdo en que su hijo participe con base en la información recibida y una copia de éste consentimiento le ha sido proporcionada .

NOMBRE DEL NIÑO

NOMBRE Y FIRMA DEL PADRE O TUTOR

FECHA

Si la madre desea participar pero no desea firmar, en su lugar pueden firmar dos testigos:

TESTIGO

TESTIGO

Fecha de aprobación: _____

Fecha de vencimiento: _____

TABLA 1

AUTOR	PAIS	AÑO	NO. DE PACIENTES	EDAD	% SERO-CONVERSION
Okuno	Japón	1960, 61, 65	2275/145	7m - 4 a	48 - 100
Kress	EU	1961	30	5 - 7 a	93
McCrumb	EU	1962	46	5 - 10 a	93
Terskikh	URSS	1971	3,305	1-8 a	82 - 85
Sabin	México	1982	48	12 - 47 m	93 - 100
Sabin	México	1983	260	4-6 m 12-47 m	87 100
Sabin	México	1984	143	12 - 24 m	72 - 100
Whittle	Gambia	1984	51	4-6 m	94
Sabin	Brasil	1985	11	12 - 35 m	100
Torigoe	Ghana	1986	230	5 m - 5 a	59
Fdz. de Castro	México	1986	172	6-8 m	84
Khanum	Bangladesh	1987	340	4-6 m	35
Fdz. de Castro	México	1987	2087	4-6 m	86
Ekune	Nigeria	1989	60	4 - 6 m	86
Fdz. de Castro	México	1990	27	8 m - 15 a	88
Fdz. de Castro	México	1994	152	Escolares	16, 58, 86
Dilraj	Sudáfrica	2000	992	5 - 14 a	84
Sepúlveda Amor	México	2002	562	6 a	98.8

Tabla 1. Ensayos clínicos con vacuna de sarampión en aerosol.

FIGURA 1

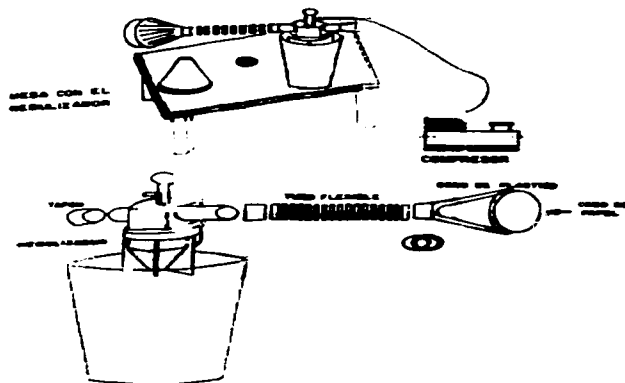


Figura 1. Diagrama del equipo utilizado para la administración del aerosol.

De: Fernández de Castro. La vacunación contra el sarampión. Situación en México y América. Bol Med Hosp. Infant Mex. 1990;47(7):449-461.

TABLA 2

	Vía aerosol n = 59	Vía subcutánea n = 55	p
Femenino	31	25	
Masculino	28	30	0.44 *
Edad (meses)	11.22 ± 0.42	11.24 ± 0.43	0.80 **
Peso (kg)	9.42 ± 0.88	9.40 ± 1.02	0.83 **
Talla (cm)	73.03 ± 2.44	73.09 ± 2.93	0.90 **

* χ^2

** t de Student

Tabla 2. Características clínicas de los grupos de vacuna en aerosol y subcutánea. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

FIGURA 2

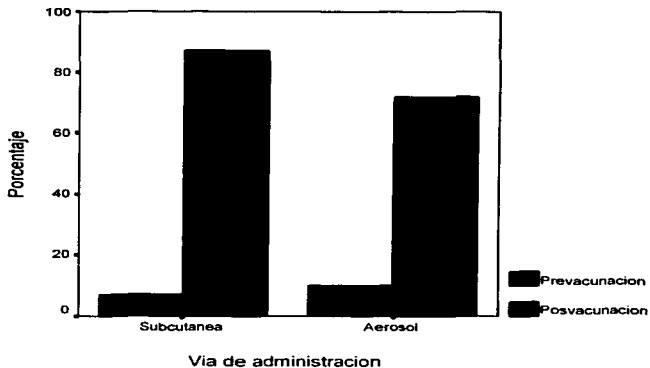


Figura 2. Porcentaje de niños con IE > 3 al antígeno de sarampión. El porcentaje de niños con IE positivo fue mayor en el grupo subcutáneo después de la vacunación.

FIGURA 3

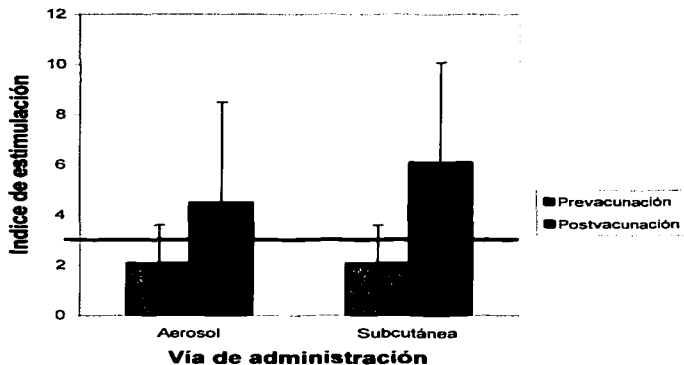


Figura 3. Mediana del IE en niños que recibieron la vacuna de sarampión por vía aerosol o subcutánea. Se observan diferencias en la mediana del IE antes y 3 meses después de la vacunación con sarampión. La línea representa el punto de corte positivo (IE >3).

FIGURA 4

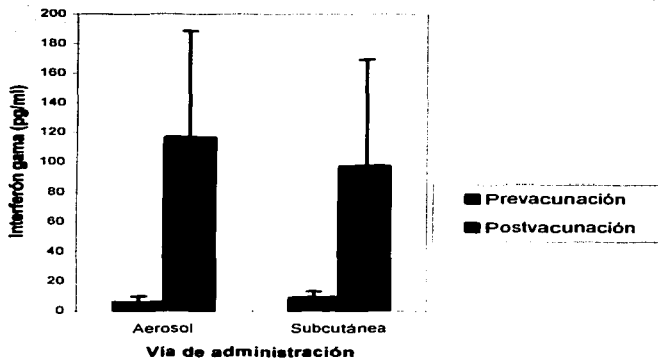


Figura 4. Media de la producción de interferón gama por las células T en respuesta a la vacuna de sarampión por vía subcutánea o aerosol. Los niveles de IFN γ antes y 12 semanas después de la vacunación no demuestran diferencias significativas entre ambos grupos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIGURA 5

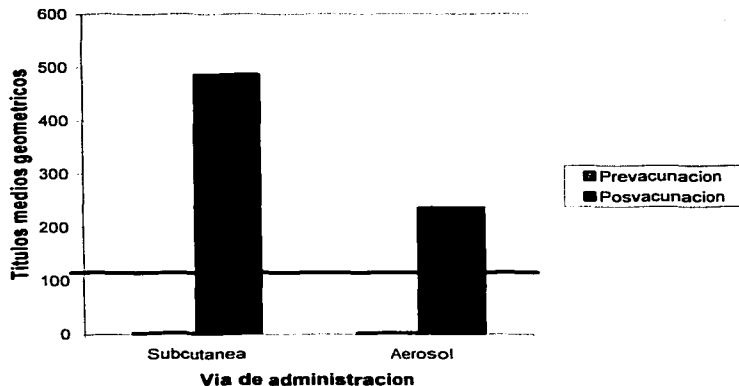


Figura 5. Títulos medios geométricos de anticuerpos anti-sarampión en niños que recibieron vacuna de sarampión por vía aerosol y subcutánea. Se observan diferencias en los títulos medios geométricos antes y 12 semanas después de la vacunación siendo mayores en el grupo subcutáneo. La línea representa el nivel de corte (>120) considerado como protector.

TIPOS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 3

	Grupo aerosol n (%)	Grupo subcutáneo (n) %	Total (n) %	Respuesta celular IE > 3	Respuesta humoral Tit. \geq 120
Patrón 1	37 (63)	45 (82)	82 (72)	Si	Si
Patrón 2	8 (13.5)	0	8 (7)	No	No
Patrón 3	8 (13.5)	7 (13)	15 (13)	No	Si
Patrón 4	6 (10)	3 (5)	9 (8)	Si	No
Total	59 (100)	55 (100)	114 (100)		

Tabla 3. Patrones de respuesta inmune a la vacuna de sarampión por vía aerosol y subcutánea. La mayoría de los niños presentó ambas respuestas, aquellos que no presentaron ninguna respuesta fueron del grupo aerosol.

TABLA 4

	VIA AEROSOL n=59		VIA SUBCUTANEA n=55		p
	#	%	#	%	
Fiebre	18	30	16	29	0.91
Rinitis	43	72	37	68	0.61
Tos	36	61	34	62	0.83
Exantema	14	23	10	18	0.49
Hiperemia conjuntival y/o lagrimeo	34	57	19	35	0.01
Diarrea	30	50	26	48	0.77
Artralgias	0		0		

Tabla 4. Efectos colaterales de la vacuna de sarampión por vía aerosol y subcutánea. No se observaron diferencias significativas entre los grupos excepto por hiperemia conjuntival y lagrimeo, siendo más frecuente en el grupo aerosol.

TESIS COMO
FALLA EN