

DURACIÓN DE LA TRANSFERENCIA PASIVA DE IGG ESPECIFICA ANTI-
POLISACÁRIDO EN NIÑOS HIJOS DE MADRES VACUNADAS CON PPSV-23
EN EL TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO

DUVAN ANDRÉS GONZALEZ CAVIEDES

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2021

DURACIÓN DE LA TRANSFERENCIA PASIVA DE IGG ESPECIFICA ANTI-
POLISACÁRIDO EN NIÑOS HIJOS DE MADRES VACUNADAS CON PPSV-23
EN EL TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO

DUVÁN ANDRÉS GONZÁLEZ CAVIEDES

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Médico

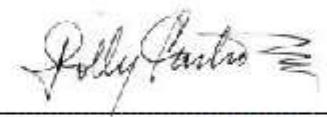
Asesores:

DIANA M. CASTAÑEDA.
Microbióloga, MSC en Ciencias Biológicas

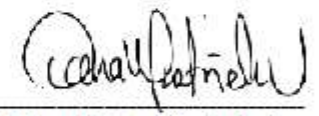
DOLLY CASTRO BETANCOURTH
Enfermera. MSC en Epidemiología

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2021

Nota de aceptación:



DOLLY CASTRO B
Firma del presidente del jurado



Diana M. Castañeda Uvajoa
Firma del jurado

Neiva, marzo del 2021.

DEDICATORIA

A mi familia, a mi padre (Q.E.P.D.), tutores y personas que siempre estuvieron ayudándome en el desarrollo del proyecto.

Duván

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

A la Profesora Diana M. Castañeda, Microbióloga, MSC en Ciencias Biológicas.

A la Doctora Dolly Castro Betancourth, Enfermera. MSC, por su apoyo permanente.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Inmunología, por su colaboración durante la realización de las practicas experimentales.

A todas gracias por su apoyo incondicional, las oportunas orientaciones y sobre todo paciencia.

CONTENIDO

| | pág. |
|------------------------------------|------|
| INTRODUCCIÓN | 13 |
| 1. JUSTIFICACIÓN | 14 |
| 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 15 |
| 3. OBJETIVOS | 17 |
| 3.1 OBJETIVO GENERAL | 17 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 17 |
| 4. ANTECEDENTES | 18 |
| 4.1 INTERNACIONALES | 18 |
| 4.2 NACIONALES | 19 |
| 4.3 LOCAL | 19 |
| 5. MARCO TEÓRICO | 20 |
| 6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES | 23 |
| 7. DISEÑO METODOLÓGICO | 31 |
| 7.1 TIPO DE ESTUDIO | 31 |

| | | pág. |
|------|------------------------------------|------|
| 7.2 | LUGAR | 31 |
| 7.3 | POBLACIÓN Y MUESTRA | 31 |
| 7.4 | TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS | 32 |
| 7.5 | INSTRUMENTO | 33 |
| 7.6 | PRUEBA PILOTO | 33 |
| 7.7 | CODIFICACION Y TABULACION DE DATOS | 33 |
| 7.8 | FUENTES DE DATOS | 34 |
| 7.9 | PLAN DE ANALISIS | 34 |
| 7.10 | ASPECTOS ÉTICOS | 34 |
| 8. | RESULTADOS | 35 |
| 9. | DISCUSIÓN | 42 |
| 10. | CONCLUSIONES | 44 |
| 11. | RECOMENDACIONES | 45 |
| | REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 46 |
| | ANEXOS | 49 |

LISTA DE FIGURAS

| | pág. | |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 | Concentración de Ig-G específica anti polisacárido en recién nacidos, en la transferencia pasiva | 35 |
| Figura 2 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn1 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 36 |
| Figura 3 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn3 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 36 |
| Figura 4 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn4 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 37 |
| Figura 5 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn5 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 37 |
| Figura 6 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn14 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 38 |
| Figura 7 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas antipolisacárido del Pn19F durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 38 |
| Figura 8 | Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn23F durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas | 39 |

LISTA DE TABLAS

| | pág. |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Tabla 1 Concentraciones medias para cada polisacárido al nacimiento, a los tres meses y a los seis meses | 40 |

LISTA DE ANEXOS

| | pág. |
|---------------------------------------------|------|
| Anexo A Instrumento de recolección de datos | 50 |
| Anexo B Cronograma de actividades | 53 |
| Anexo C Presupuesto de gastos | 54 |

RESUMEN

La infección por *Streptococcus pneumoniae* se presenta con mayor frecuencia en los extremos de la vida. Para realizar la prevención en estos grupos (niños menores de 1 año y ancianos) se encuentra disponible la vacuna polisacáridica de 23 serotipos (PPSV23). Sin embargo, esta no es inmunogénica en niños menores de dos años dada la inmadurez del sistema inmunológico, pero es en esta población donde se presenta el mayor riesgo de morbimortalidad.

A partir de esta problemática, se desarrollaron las vacunas conjugadas, primero de siete valencias (PCV7) y actualmente de trece valencias (PCV13), para proteger durante este periodo de vida, pero su uso ha tenido limitaciones dado el número de serotipos que incluyen, pues son los 13 más frecuentes en Estados Unidos y Canadá, dejando por fuera muchos que son comunes en países en vía de desarrollo, como Colombia. A pesar que la PCV13 se encuentra dentro del Plan Ampliado de Inmunización (PAI) de Colombia, esta no nos garantiza protección eficaz durante los primeros dos meses de vida, y debido a esto surge la posibilidad de inmunizar a las madres durante el tercer trimestre con la PPSV23 que brinda más serotipos y es menos costosa. De esta forma se podría garantizar la transferencia pasiva transplacentaria de IgG específica antipolisacárido hacia los niños. Por lo tanto, es importante analizar el comportamiento de las concentraciones durante los primeros seis meses de vida de los niños, estableciendo si son o no protectoras.

La metodología del proyecto incluyó varias fases: Primero, se seleccionaron 140 maternas que se encontraban en el tercer trimestre del embarazo y se distribuyeron de forma aleatoria en dos grupos, uno de 91 y el otro de 49. El primer grupo recibió la PPSV23 y el otro contra *Haemophilus Influenzae* (grupo control). En segundo lugar, se realizó la toma de muestras de sangre periférica de los niños al momento del nacimiento, a los tres meses y a los seis meses. Por último, se determinaron los títulos de IgG específicos anti-neumococcos para los serotipos 1, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F en 50 niños del grupo de neumococo y 50 del grupo control. Los resultados preliminares muestran que hay transferencia pasiva transplacentaria de IgG específica antipolisacárido en los niños al momento del nacimiento. Así mismo, se evidencia niveles protectores en cierto porcentaje de los niños durante los primeros 3 meses en varios polisacáridos.

Palabras claves. *Streptococcus pneumoniae*, PPSV23, PCV13, niños, protección, transferencia pasiva, concentraciones.

SUMMARY

Streptococcus pneumoniae infection occurs most frequently at the extremes of life. To carry out prevention in these groups (children under 1 year old and elderly), the polysaccharide vaccine with 23 serotypes (PPSV23) is available. However, it is not immunogenic in children under two years of age given the immaturity of the immune system, but it is in this population where the greatest risk of morbidity and mortality is presented.

From this problematic, conjugate vaccines were developed, first of seven valences (PCV7) and currently of thirteen valences (PCV13), to protect during this period of life, but its use has had limitations given the number of serotypes that include, They are the 13 most frequent in the United States and Canada, leaving out many that are common in developing countries, such as Colombia. Although PCV13 is within the Expanded Plan of Immunization (PAI) of Colombia, this does not guarantee effective protection during the first two months of life, and due to this, there is the possibility of immunizing mothers during the third trimester with the PPSV23 that provides more serotypes and is less expensive. In this way, transplacental passive transfer of antipolysaccharide specific IgG to children could be guaranteed. Therefore, it is important to analyze the behavior of the concentrations during the first six months of life of the children, establishing whether or not they are protective.

The project methodology included several phases: First, 140 maternal patients were selected who were in the third trimester of pregnancy and were randomly distributed into two groups, one of 91 and the other of 49. The first group received the PPSV23 and the another against *Haemophilus Influenzae* (control group). Secondly, the peripheral blood samples were taken from the children at the time of birth, at three months and at six months. Finally, specific anti-pneumococcal IgG titers were determined for serotypes 1, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18C, 19F and 23F in 50 children of the pneumococcal group and 50 in the control group. Preliminary results show that there is transplacental passive transfer of specific IgG antipolisaccharide in children at birth. Likewise, protective levels are evident in a certain percentage of children during the first 3 months in several polysaccharides.

Key words. *Streptococcus pneumoniae*, PPSV23, PCV13, children, protection, passive transfer, concentrations.

INTRODUCCIÓN

La infección por *Streptococcus Pneumoniae* (Neumococo) es frecuente en los extremos de la vida, y en niños menores de dos años, específicamente en aquellos que no sobrepasan el mes de vida. Continúa siendo un problema de salud pública dado la incidencia de casos que se presenta anualmente y que puede aumentar hasta diez veces en países en vía de desarrollo.

El neumococo en América Latina en niños menores de cinco años causa 1,300,000 de otitis media que puede conllevar a sordera, 327,000 casos de neumonía, 1,229 casos de sepsis y 4,000 casos de meningitis. Esta incidencia puede aumentar hasta diez veces en países en vía de desarrollo. Así mismo, la mortalidad puede variar desde un 37% hasta un 80% según la edad del niño y la enfermedad que se desarrolle a partir de la infección.

El neumococo es una bacteria de tipo Gram positivo debido a su capsula polisacáridica, que dentro de todas las funciones se destacan: Primero, la capacidad de adherirse al epitelio ciliar que se encuentra en la nasofaringe. Por otro lado, la capsula le permite una variabilidad que puede alcanzar más de 90 serotipos, de los cuales la mitad pueden llegar a ser patógenos dentro los humanos. Si embargo, solo bastan seis meses de vida para ser colonizados por uno de ellos y que se establezca en la nasofaringe de forma definitiva a partir de esta edad.

En los primeros años de edad los antígenos capsulares no logran estimular las células T-ayudadoras, por lo cual no hay respuesta frente a una exposición inicial y mucho menos frente a la reexposición. Con la inclusión de la PCV13 en el PAI de Colombia, se favorece la protección a partir de los dos meses de edad, aun con el sistema inmune inmaduro en los niños. Sin embargo, queda aún un periodo descubierto, que comprende desde el momento del nacimiento hasta cuando recibe la primera dosis de la PCV13. Durante este momento de la vida se han reportado incidencias elevadas de enfermedad por neumococo que pueden llegar hasta los 15 casos por cada 1,000 nacidos vivos.

Debido a lo anterior, se han realizado estudios a nivel mundial sobre como la inmunización de madres puede conducir a la transferencia pasiva de IgG específica antineumocócicas, que conlleve a concentraciones protectoras durante los primeros meses de vida. Por lo tanto, es altamente relevante estudiar el paso de anticuerpos a través de la placenta y evaluar las concentraciones durante los primeros seis meses de vida para determinar si son protectoras en estos periodos críticos en los niños.

1. JUSTIFICACIÓN

Al día de hoy, no se conoce la duración de IgG específicas frente a los polisacáridos 1,3,4,5,6B, 9V,14,18C,19F y 23F, que son transmitidas a hijos por madres vacunadas con la vacuna anti-neumocócica polisacárido de 23 serotipos.

Es de conocimiento la transmisión transplacentaria de anticuerpos específicos frente a neumococo de madres a hijos ⁽¹⁴⁾, sobre la inmunización durante el tercer trimestre del embarazo ⁽¹⁵⁾, acerca de la transmisión de anticuerpos específicos frente polisacáridos⁽¹⁾, y las concentraciones que se deben alcanzar para tener anticuerpos que contribuyan ante una eventual infección⁽⁶⁾.

Ahora bien, teniendo en cuenta que el neumococo es uno de los principales agentes etiológicos de infecciones en el sistema respiratorio, y constituye una alta carga de morbilidad y mortalidad en los menores de dos años, particularmente en aquellos que no superan los cuatro meses debido a su inmadurez inmune, se debe tomar a consideración una forma de generar inmunidad frente a este patógeno. Para tal objetivo, está la vacuna PCV-13, aunque esta no puede ser administrada antes de las seis semanas dada su dependencia de células T ⁽¹⁶⁾.

Con el fin de generar esta inmunidad, surge la idea de inmunizar a madres con la PPV-23, para generar una respuesta humoral pasiva transplacentaria en niños recién nacidos durante los primeros seis meses de edad, como estrategia para disminuir la colonización nasofaríngea y el número y severidad de las infecciones causadas por esta bacteria en este grupo etéreo.

Ningún estudio a nivel mundial, hasta el momento, se ha enfocado en tal cantidad de polisacáridos y ha evaluado la duración de las IgG específicas frente a estos, con un método tan eficiente. Por tal motivo es importante conocer en este grupo de madres y niños cuál es la cinética a través del tiempo de estas IgG, y confirmar si la respuesta humoral pasiva frente a los serotipos más frecuentes y los más agresivos.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infección por *S. pneumoniae* es la más frecuente en el tracto respiratorio en niños a nivel mundial. Causa gran morbimortalidad en los primeros dos años, especialmente en los menores de dos meses de vida, por lo cual se están buscando estrategias que permitan disminuir su incidencia. Una de ellas es la inmunización con la vacuna de 23 serotipos del neumococo correspondientes a una mezcla de los polisacáridos que determinan los serotipos, seleccionados por la frecuencia con la que producen infección en el humano, sin embargo, esta vacuna no induce protección homogénea en los niños menores de 2 años por inmadurez en el sistema inmune, por lo cual se ideó la implementación de una vacuna conjugada, consistente en la unión del carbohidrato capsular de un serotipo seleccionado a una proteína (toxóide tetánico, toxóide diftérico o la proteína de la membrana externa de *Neisseria meningitidis*) para hacer más efectiva la respuesta inmune contra dicho polisacárido en el hospedero vacunado independientemente de la edad ⁽⁸⁾. Es así como desde el 2000 en los Estados Unidos se incluyó la vacuna heptavalente conjugada, la cual estuvo considerada en el esquema de vacunación infantil de los niños norteamericanos y demostró reducción tanto en la frecuencia de infecciones invasivas neumocócicas, incluida la disminución de frecuencia de otitis, como en la colonización nasofaríngea⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾.

Posteriormente, para el año 2010, se aprobó el uso de la vacuna polisacárido conjugada de 13 serotipos (PCV 13) en pacientes pediátricos mayores a seis semanas, hasta los 71 meses ⁽⁹⁾. Esto se realizó debido al aumento de infecciones invasivas por serotipos que no eran capaces de cubrir la PCV7, y de esta manera aumentaron los casos de neumonía y otitis gracias a estos serotipos⁽¹¹⁾. Es importante destacar, que este tipo de vacunas es más costosa, pero más efectiva en infantes menores de dos años dada la respuesta inmune que es capaz de producir⁽⁸⁾.

Sin embargo, han surgido problemas con este plan: primero, no todos los serotipos que ocasionan infección en una comunidad determinada se podrían conjugar a proteínas, pues hay un límite en la conjugación por lo que se seleccionaron los serotipos más prevalentes en Estados Unidos y Canadá⁽¹²⁾, con esto se dejan por fuera serotipos que empiezan a ser importantes y solo se llega hasta los 13 de mayor importancia. En segundo lugar, cada conjugación incrementa el costo de la vacuna. En tercer lugar, hay evidencia en la literatura reciente de que la vacunación puede forzar el cambio de los serotipos encontrados en aquellos niños que aún después de la vacuna presentan infección neumocócica por serotipos no vacúnales, por lo tanto es posible que exista un “desplazamiento” o un reemplazo epidemiológico a los serotipos no vacúnales ⁽¹³⁾⁽¹¹⁾. Este reemplazo, puede llevar a serotipos que no están dentro de la PCV-13 a generar mayor enfermedad de tipo

invasiva, pero que si pueden estar incluidos dentro de la PPV-23. Por tanto, esto nos llevó a plantear la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la duración de la transferencia pasiva de IgG específica anti-polisacárido en niños hijos de madres vacunadas con PPSV-23 en el tercer trimestre del embarazo?

El estudio se realizó en el laboratorio de Inmunidad en infección (I&I LAB), ubicado en la Facultad de Salud de la Universidad Surcolombiana. Se utilizaron muestras previamente recolectadas y almacenadas en la seroteca en el laboratorio.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el comportamiento de las IgG específicas anti-polisacáridos en niños, hijos de madres vacunadas en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna PPSV-23 durante los primeros seis meses de vida.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la transferencia de IgG específica anti polisacárido en los recién nacidos de madres vacunadas con PPSV23

Establecer el comportamiento de los títulos de IgG específica anti polisacárido en los niños en los primeros seis meses de vida.

4. ANTECEDENTES

4.1 INTERNACIONALES

En el año 2016, Berezin y cols., llevaron a cabo la inmunización a madres durante el embarazo en el tercer trimestre con la vacuna polisacárida anti-neumococcica 23-valente (PPV23) y evaluaron la transmisión de anticuerpos frente a los polisacáridos 1, 6B y 14 específicos de la vacuna, tomando muestras de la madre antes del parto y un mes después de este. En los niños, se realizó la toma de muestra al mes del nacimiento y a los 6 meses. Con esto, se demostró como las concentraciones iban disminuyendo en el tiempo, pero se mantenía mayor a 0.35 ug siendo de esta manera un concentración en promedio protectora⁽¹⁾.

Por otro lado, Lopes y cols., realizaron la vacunación de 139 madres con la PPV23 durante el tercer trimestre de gestación con el fin de prevenir la infección por neumococo en los recién nacidos. Estas se dividieron en 3 grupos según el tiempo y la administración de la vacuna. A los seis meses de edad de los niños, se midió la colonización nasofaríngea, sin embargo no hubo diferencia entre los hijos de las madres en los tres grupos⁽²⁾. Posteriormente, en el año 2012, Claudia C. Lopes y cols., inmunizaron con la PPV23 a mujeres embarazadas durante la gestación, el puerperio inmediato y otras que no se vacunaron. Para valorar la eficacia de esta en los infantes, se tomaron muestras nasofaríngeas a los tres y seis meses, evidenciando que se disminuyó la colonización del serotipo 6B en los recién nacidos, cuyas madres habían sido vacunadas durante la gestación, a diferencia de los otros dos grupos, en los cuales este serotipo fue el más frecuente⁽³⁾.

Emma Holmlund y cols., realizaron la vacunación con PPV-23, Hib y toxoide tetánico, en madres durante el embarazo, y a infantes en la 7 semana de edad y el refuerzo a la semana 17. Posteriormente llevaron a cabo la medición frente a seis polisacáridos mediante ELISA. Se hallaron concentraciones elevadas promediando todos los serotipos hasta los 4 meses de edad en hijos de madre vacunadas, a diferencia de los hijos de madres no vacunadas. Se observó la cinética de los serotipos 6B, 14, 18C, y 19F, debido a la baja respuesta que presentaron frente a estos. Por el contrario, la mayor respuesta fue frente a los serotipos 1 y 5⁽⁴⁾.

En el año 2006, Quiambao y cols., en un estudio controlado aleatorizado de madres embarazadas, inmunizaron 106 de ellas con PPV23 para determinar el paso de anticuerpos antineumococcicos a sus hijos. En este, se determinó que el umbral protector en sangre de cordón para alcanzar protección en los hijos es de 4,4 ug/ml.

Esto se logró en el 60% de las madres, siendo reflejado en una concentración promedio $>0,35\text{ug/ml}$ en los hijos hasta los ⁽⁵⁾ primeros 4 o 5 meses de edad⁽⁶⁾.

4.2 NACIONALES

A nivel nacional no se ha llevado a cabo ningún estudio como este. Sin embargo, el más cercano a nuestro objetivo, data del año 1995 cuando se buscó la distribución y frecuencias de serotipos en la ciudad de Bogotá en siete instituciones. A esto, se asoció la comparación de serotipos que incluye la PPV-23, y determinó cuantos se cubrirían con esta. La conclusión, a partir de los hallazgos, fue el hallazgo de 17 serotipos como los más frecuentes en la ciudad de Bogotá, los cuales estaban dentro de la vacuna encontraban dentro de esta vacuna⁽⁷⁾.

4.3 LOCAL

A nivel local, no hay ningún estudio publicado que guarde similitud. Sin embargo, en el año 2009 se generó una tesis de grado a partir de resultados parciales sobre madres vacunadas con PPV-23 y la vacuna frente *Haemophilus Influenzae*. Se concluyó que estas eran inmunogénicas, por lo cual desarrollaban una respuesta humoral que perduraba incluso después del embarazo. La mayor respuesta fue frente al serotipo 14, siendo significativa sobre los demás. Por otro lado, el de menor respuesta sería el serotipo 4⁽⁵⁾.

5. MARCO TEÓRICO

El *Streptococcus pneumoniae*, o comúnmente conocido como neumococo, es un diplococo Gram positivo de tipo anaerobio facultativo⁽¹⁷⁾. Esta bacteria es considerada como el principal patógeno que afecta el tracto respiratorio superior, principalmente en niños menores de cinco años y en los mayores de 65 años⁽¹⁸⁾. Debido a sus múltiples factores de virulencia, posee la capacidad de producir diversas patologías, las cuales puede variar desde afectación local, tales la otitis media, hasta una invasión de tipo sistémica, ya sean; neumonía, meningitis y sepsis⁽¹⁷⁾. En Latinoamérica, el Sistema Regional de Vacunas (SIREVA) de la organización panamericana de la salud (OPS), reporta los casos anuales por este tipo de enfermedades. Los datos más recientes muestran un total de 324.000 casos de neumonía, 4000 casos de meningitis en mayores de seis meses, y un 1.3 millones de casos de otitis media. A partir de esto se dedujo que el 80% de niños menores de dos años que sufren una enfermedad sistémica por neumococo, mueren a debido a esta.

Por otro lado, cabe resaltar que, además de ser un patógeno importante, forma parte de la flora microbiana normal de la nasofaringe, lugar a partir del cual puede generar invasión a través de la mucosa, y posterior diseminación para el desarrollo de la enfermedad invasiva⁽¹⁹⁾. La prevalencia de colonización nasofaríngea ronda el 37% en menores de 2 años, y generalmente puede ser por diversos serotipos⁽²⁰⁾.

El neumococo se caracteriza por una amplia variedad de factores de virulencia y patogenicidad. Sin embargo, el más importante lo conforma la cápsula polisacárida. Esta es la estructura más superficial, y está encargada de evitar la fagocitosis, al tiempo que es el principal componente a partir del cual se genera la respuesta de anticuerpos. Al mismo tiempo, la cápsula favorece variabilidad, que conlleva a la clasificación de más de 90 serotipos de esta bacteria, pero de los cuales solo 15 generan infección invasiva en los humanos⁽²¹⁾⁽²²⁾. En Colombia, a través SIREVA de la OPS, se inició la vigilancia de la distribución de los serotipos capsulares y la susceptibilidad microbiana de los aislamientos de *S. pneumoniae* causantes de enfermedad invasiva en niños menores de 6 años. Este proyecto ha permitido establecer que los 9 serotipos más importantes para este grupo de población son en su orden el 14, 6B, 23F, 1, 5, 6A 19F, 18C y 9V.

A partir de lo anterior, y dado que es el principal factor de virulencia, el polisacárido capsular se ha convertido en el principal antígeno a partir del cual se plantea generar la respuesta inmune. De esta manera, se clasifican como antígenos timo independiente de tipo 2 (Ti-2), lo cual significa que no requieren que el HLA lleve a cabo la presentación a las Células T, debido a que este es reconocido directamente

por el receptor de superficie de células B, generando la producción de anticuerpos que generalmente suele ser mínima⁽⁹⁾.

Se conoce que los anticuerpos que se producen para generar protección frente a infecciones invasivas son los anticuerpos de tipo IgG. A través de este, se genera una opsonización y posterior fagocitosis del microorganismo por parte de neutrófilos y de macrófagos. Además de la IgG, también se puede presentar la IgA, sin embargo esta puede conferir cierta actividad de protección en mucosas, hecho que aún es discutido⁽²³⁾.

Como estrategia costo efectiva, surgió el uso de vacunas con base en el uso de los polisacáridos. Hasta el momento se han creado cerca de 4 vacunas. La primera en desarrollarse fue la vacuna polisacárida 23-valente, la cual se introdujo al mercado en 1982. Esta, incluía los 23 polisacáridos de los serotipos más frecuentes de países como Estados Unidos y Canadá. Sin embargo, esta es de tipo timo independiente, por lo cual la producción de anticuerpos no es tan significativa debido a la no participación de las células T. En consecuencia, esto impide la inmunización con esta vacuna en menores de dos años, debido a la inmadurez del sistema inmune⁽⁹⁾.

En un estudio realizado en Brasil, 33 madres entre las 32 y las 39 semanas de gestación fueron vacunadas con la vacuna 23-valente observándose que hubo un mayor título de anticuerpos anti-polisacárido en niños a término que en pretérmino⁽¹⁴⁾. Sin embargo, no se hizo un seguimiento de los niños para observar la efectividad de la vacunación en la prevención de la infección neumocócica ni del estado de portador nasofaríngeo de *S. pneumoniae*. Otro estudio realizado en Gambia en el que se vacunaron 57 madres durante los dos últimos trimestres del embarazo mostró un incremento en la IgA anti-polisacárido en el calostro, la concentración de IgA específica por lo menos en los cuatro primeros meses de vida del niño y los anticuerpos tenían suficiente actividad anti-neumocócica in vitro, sin embargo, no se hizo correlación con la colonización nasofaríngea ni con el grado de efectividad clínica⁽²⁴⁾.

En el año 2006, Quiambao y cols., en un estudio controlado aleatorizado de madres embarazadas, inmunizaron 106 de ellas con PPV23 para determinar el paso de anticuerpos antineumococcos a sus hijos. En este, se determinó que el umbral protector en sangre de cordón para alcanzar protección en los hijos es de 4,4 ug/ml. Esto se logró en el 60% de las madres, siendo reflejado en una concentración promedio >0,35ug/ml en los hijos hasta los primeros 4 o 5 meses de edad⁽⁶⁾. Y en el año 2016, Berezin y cols., llevaron a cabo la inmunización a madres durante el embarazo en el tercer trimestre con la vacuna polisacárida antineumococica 23-

valente (PPV23) y evaluaron la transmisión de anticuerpos frente a los polisacáridos 1, 6B y 14 específicos de la vacuna, tomando muestras de la madre antes del parto y un mes después de este, demostrando como las concentraciones iban disminuyendo en el tiempo, pero se mantenía mayor a 0.35 ug siendo de esta manera un concentración en promedio protectora⁽¹⁾.

Las otras vacunas consisten en los polisacáridos, en menor cantidad, pero unidos a una proteína portadora como un toxoide tetánico, lo cual torna el polisacárido más dependiente de la respuesta celular T, y por consiguiente pueden ser administradas en menores de un año. Este tipo de vacunas se conocen comúnmente como conjugada, y dentro de ellas podemos encontrar, PCV7, PCV10 y la PCV13⁽²⁵⁾. Diversos estudios han mostrado la capacidad de estas vacunas para disminuir la enfermedad invasiva, pero principalmente en mayores de un mes de edad, dejando desprotegido a los niños durante el primer mes y observando gran cantidad de casos entre estos aún. En nuestro país, se incluyó recientemente la PCV13, sin embargo, persiste el mismo problema y al mismo tiempo se está observando un desplazamiento hacia serotipos no vacunales, sin dejar a un lado el alto costo que supone la unión de cada polisacárida proteína, lo cual supone que no todos los polisacáridos se pueden conjugar.

Estrategias más económicas tendientes a cubrir la población en riesgo como los niños en los primeros seis meses de vida son importantes para disminuir las tasas de morbimortalidad causadas por la infección respiratoria y por las otras enfermedades invasivas o no, cuyo principal agente bacteriano es el neumococo.

6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE | DEFINICIÓN | CATEGORIA | NIVEL DE MEDICION | INDICADOR |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| IgG específica anti polisacárido 1 al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 1 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 3 al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 3 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 4 al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 4 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |

| | | | | |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 5 al nacimiento. | polisacárido tipo 5 del neumococo. | al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | | |
| IgG específica anti polisacárido 6B al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 6B del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 9V al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 9V del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 14 al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 14 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 18C al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 18C del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |

| | | | | |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| IgG específica anti polisacárido 19F al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 19F del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 23F al nacimiento. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 23F del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 1 a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 1 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 3 a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 3 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |

| | | | | |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| IgG específica anti polisacárido 4 a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 4 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 5 a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 5 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 6B a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 6B del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 9V a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 9V del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. |

| | | | | |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| polisacárido 14 a los tres meses. | capsular polisacárido tipo 14 del neumococo. | considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | | Intervalo de confianza. |
| IgG especifica anti polisacárido 18C a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 18C del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG especifica anti polisacárido 19F a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 19F del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG especifica anti polisacárido 23F a los tres meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 23F del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG especifica anti polisacárido | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |

| | | | | |
|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 1 a los seis meses. | polisacárido tipo 1 del neumococo. | al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | | |
| IgG específica anti polisacárido 3 a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 3 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 4 a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 4 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 5 a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 5 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 6B a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 6B del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |

| | | | | |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| IgG específica anti polisacárido 9V a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 9V del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 14 a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 14 del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 18C a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 18C del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
| IgG específica anti polisacárido 19F a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo 19F del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |

| | | | | |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| IgG específica anti polisacárido 23F a los seis meses. | Anticuerpo de tipo IgG específico frente al serotipo capsular polisacárido tipo del 23F del neumococo. | Se observará su concentración a través de densidades ópticas en espectrofotometría y se considerara protector si es mayor a al punto de cohorte establecido en el protocolo para madres e hijos. | Cuantitativa continua | Medidas de tendencia central y de dispersión. Intervalo de confianza. |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------|

7. DISEÑO METODOLÓGICO

7.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio retrospectivo de casos y controles. Se trabajo a partir de muestras de sangre periféricas que se tomaron en el año 2005 de niños hijos de madres vacunadas durante el tercer trimestre de gestación con la vacuna antineumocócica de 23 valencias, los cuales constituyeron los casos. Para los controles, también se tomaron muestras de sangre periférica, pero eran hijos de madres que fueron vacunadas con la vacuna polisacárido frente Haemophilus Influenza e.

7.2 LUGAR

El estudio se realizó en el laboratorio de infección e inmunidad de la Universidad Surcolombiana, en la Facultad de Salud. Allí, se contó con todas las muestras refrigeradas a -70°C. De la misma manera, se obtuvo los reactivos e instrumentos necesarios para realizar el protocolo de ELISA a todas las muestras, y su posterior lectura e interpretación.

7.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población se tomó a partir de muestras que se encontraban almacenadas en la seroteca del laboratorio de infección e inmunidad de la universidad Surcolombiana. Estas se recolectaron en el año 2005 de madres, durante su gestación, que asistieron a charlas que ofreció la institución amiga de la mujer y la infancia (IAMI), sobre neumococo y la vacuna polisacárida de 23 valencias antineumococica.

En total se tomaron 140 sueros de muestras previamente recolectadas; esta muestra fue no probabilística y por conveniencia. Los criterios de inclusión para estar dentro de la investigación fueron; estar cursando el tercer trimestre de gestación, y tener un embarazo de bajo riesgo comprobado por los exámenes y controles prenatales que se realizaron. Por lo tanto, debían cumplir con los dos criterios.

Por otro lado, no debían tener ninguno de los criterios de exclusión, los cuales fueron: edad materna extrema, presentación podálica, preeclampsia, eclampsia,

ruptura prematura de membranas o alguna alteración en los paraclínicos del TORCH.

A partir de esto, la muestra se dividió en dos grupos, y de esta manera se conformaron el grupo control y el grupo de los casos. Así, el grupo control estaría conformado por un grupo de madres que no recibió la PPSV23, pero si recibió la vacuna frente Haemophilus Influenzae. Una vez se realizó esto, se midieron los anticuerpos frente a los diez serotipos seleccionados en los hijos de estas madres en los tiempos establecidos. Por otro lado, los casos fueron los hijos de las madres vacunados con la PPSV23 y de igual forma se llevó a cabo la medición de sus anticuerpos en los respectivos tiempos. Sin embargo, por disponibilidad de reactivos solo se pudo analizar 100 muestras, de las cuales 50 fueron casos y los restantes 50 controles.

7.4 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

Se tomaron las muestras almacenadas en la seroteca de los niños del grupo control y del grupo vacunado con la PPSV23, estas se encontraban marcadas, permitiendo saber la temporalidad de cada una; si era recién nacido, a los tres meses o a los seis meses. Una vez finalizara el trabajo experimental, se correlacionaría el código con el respectivo niño, de esta manera se evitarían sesgos al momento de llevar a cabo la medición in vitro a través de ELISA (Inmuno-ensayo ligado a enzima).

El trabajo experimental del presente estudio se realizó determinando los títulos de IgG específicas anti-neumococcica a través de la técnica de ELISA.

El procedimiento consistió en lo siguiente: se tomaron placas de ELISA (Corning), las cuales se cubrieron con 100 ul de los diferentes polisacáridos comerciales (1, 3, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18F, 19F y 23F- ATCC, Rockville, MD, USA). Estos se entraban diluidos en PBS a concentración 10X. Una vez se cubrían, se llevaba a la incubación de 12 horas. Junto a esto, se realizó la incubación de las muestras con el polisacárido C (Statens Serum Institute, Dinamarca) para remover anticuerpos contaminantes antes de adicionarlas a las placas. Luego, se llevó a una dilución final de 1/10 para las muestras de los niños en PBS/TWEEN.

Posteriormente, una vez se finalizaba la incubación, se lavaban las placas tres veces con PBS/TWEEN. Para la referencia se utilizó suero estándar que se conoce como FDA 89-SF, el cual ya tiene concentraciones establecidas de anticuerpos anti-neumococcicos. Una vez lavadas, se adicionan las muestras de los niños 1/10 que

se incubaron con el polisacárido C y se realizan diluciones seriadas desde 1/10 hasta 1/80. El suero de referencia se diluyo en 1/200 y se llevó hasta 1/12.800, al finalizar, se incubo por dos horas.

Luego de la incubación, se realizaron tres lavados nuevamente con PBS/TWEEN y se adiciono el conjugado HRP-IgG de raton anti-IgG humana diluido 1/1000 (ICN Biochemical, USA), con posterior incubación de dos horas.

Finalmente, se realizaron tres lavados al finalizar la incubación y se adiciono 100 ul de tetrametilbencidina (Sigma-Aldrich, USA) como sustrato diluido en buffer citrato fosfato (Sigma-Aldrich, USA) a pH 4,5, más 3,3 ml de H₂O₂. La reacción se detuvo con 50 ul de H₂SO₄ y se leyó a 450 nm usando un filtro de referencia 690 en un lector de ELISA. Las concentraciones mayores a 1,2 ug/ml se consideraron efectivas contra el serotipo analizado.

7.5 INSTRUMENTO

El instrumento de recolección de los resultados es una tabla que nos permite poner las concentraciones de anticuerpos en los diferentes momentos que fueron tomadas las muestras (Ver Anexo A). De esta manera, se correlacionó la concentración de las IgG específicas frente a cada serotipo y se observará su cambio a través del tiempo en las muestras de los hijos de madres vacunadas con la PPSV23. A su vez, permitió comparar con las muestras de los hijos de madres del grupo control y establecer la relación si la duración es estadísticamente significativa durante los primeros seis meses.

7.6 PRUEBA PILOTO

El presente estudio contó con la realización de prueba piloto por parte del experto de la investigación, la cual fue estandarizada y aplicada.

7.7 CODIFICACION Y TABULACION DE DATOS

El plan de procesamiento de datos inicio una vez se obtuvo los resultados del análisis de las muestras. Primero, se procedió tabulación de la información, para lo cual se creó una base de datos en Excel de cada muestra con sus respectivos 10

serotipos evaluados. Esto nos permitió analizar si las diluciones de cada muestra eran correctas y se podía proceder a generar las concentraciones de cada muestra.

Una vez se verificó esto, se codificó la información en GraphPad Prism 7, al crear una base de datos con los respectivos valores de la espectrofotometría e interpolarlos a sus respectivas concentraciones a través de la fórmula que indica el protocolo (Ver Anexo B). Esto permite una mayor confiabilidad debido a que la información se presentara en tablas útiles para graficar los datos de mayor interés para por parte del investigador.

7.8 FUENTES DE DATOS

La fuente de la información secundaria a partir de la base de datos de la seroteca del laboratorio I&I de la facultad de Salud. Así mismo, de allí se obtuvo la información necesaria de las muestras, tanto de madres como de hijos.

7.9 PLAN DE ANALISIS

El análisis se llevó a cabo una vez se codificó la información en GraphPad Prism 7. Esto permitió generar la ecuación (Ver Anexo B) que establece el protocolo, lo que interpolar las densidades ópticas (DO) a los ug/ml de cada una de las muestras. Así mismo, facilitaba la producción de las gráficas para cada uno de los serotipos y de esta manera simplificaba el análisis estadístico.

7.10 ASPECTOS ÉTICOS

Para la realización del presente trabajo, se adoptaron las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, profundizadas en la Resolución número 8430 del 4 de octubre de 1993 y las normas de las Buenas prácticas clínicas para las instituciones que conduce investigación con medicamentos en seres humanos, citadas en la resolución número 2378 del 37 de julio de 2008.

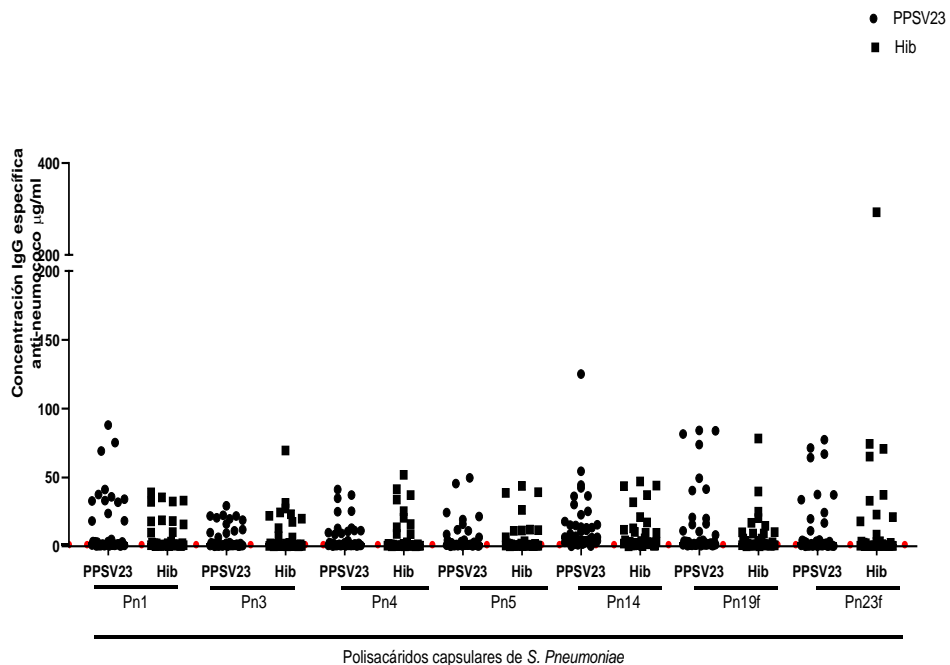
Los documentos fueron revisados y aprobados por el Comité de ética de la Universidad Surcolombiana, con el aval de la directora en ese momento, la Dra. Amparo Páramo.

8. RESULTADOS

Se seleccionaron un total de 140 niños, hijos de madres vacunadas con la PPSV-23 o frente a HiB, durante el tercer trimestre. Sin embargo, solo se pudo analizar 101 niños debido a inconvenientes en el laboratorio por el déficit de reactivos, así como también siete polisacáridos de los 10, que incluyeron; El polisacárido 1,3,4, 5,14, 19f y 23f. Estos, se separaron en los grupos respectivos de casos y controles según el código de la base de datos.

El límite de protección que se estableció para todos los serotipos fue de 1,3 µg/ml. En primer lugar, se evidenció la transferencia pasiva de Ig-G específica anti polisacárido al momento del nacimiento, indistintamente entre los dos grupos, superando el límite de protección para la mayoría de la población en los siete polisacáridos (1,3,4,5,14, 9F, 23F) (Figura 1.).

Figura 1. Concentración de Ig-G específica anti polisacárido en recién nacidos, en la transferencia pasiva.



- Línea roja discontinua representa la concentración protectora de 1,3.

En segundo lugar, se observó el comportamiento de las Ig-G específicas anti polisacárido frente a cada uno de los siete polisacáridos durante los primeros seis meses, comparando con el grupo control. (Ver figura de 2 a la 8).

Figura 2. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn1 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.

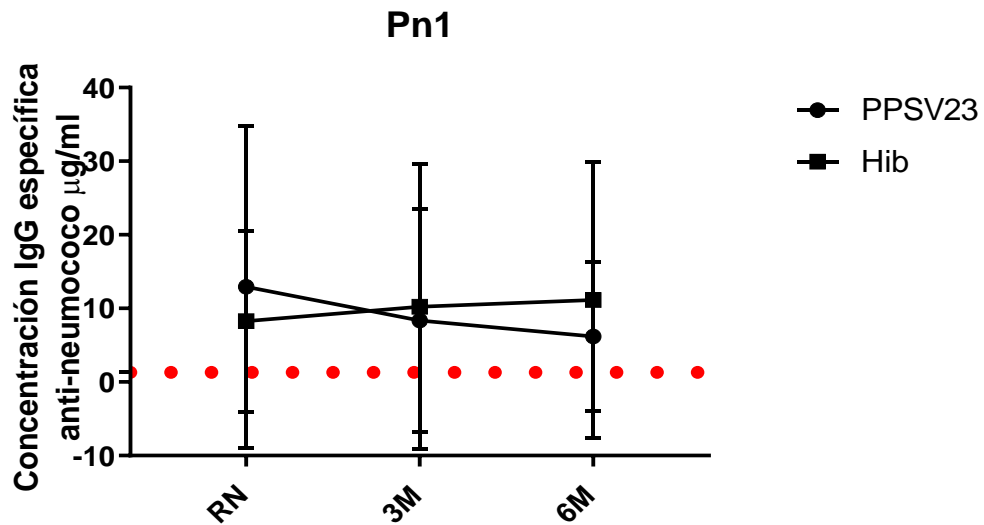


Figura 3. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn3 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.

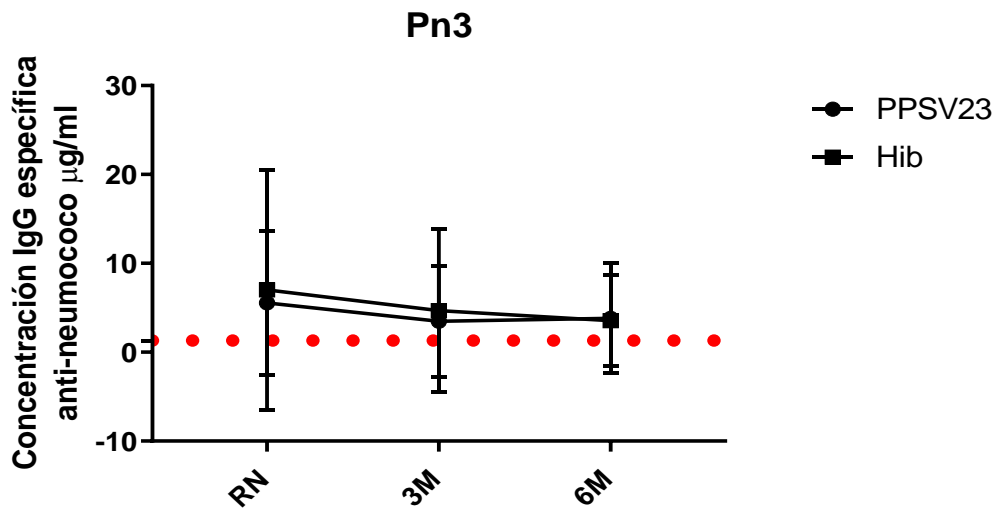


Figura 4. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn4 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.

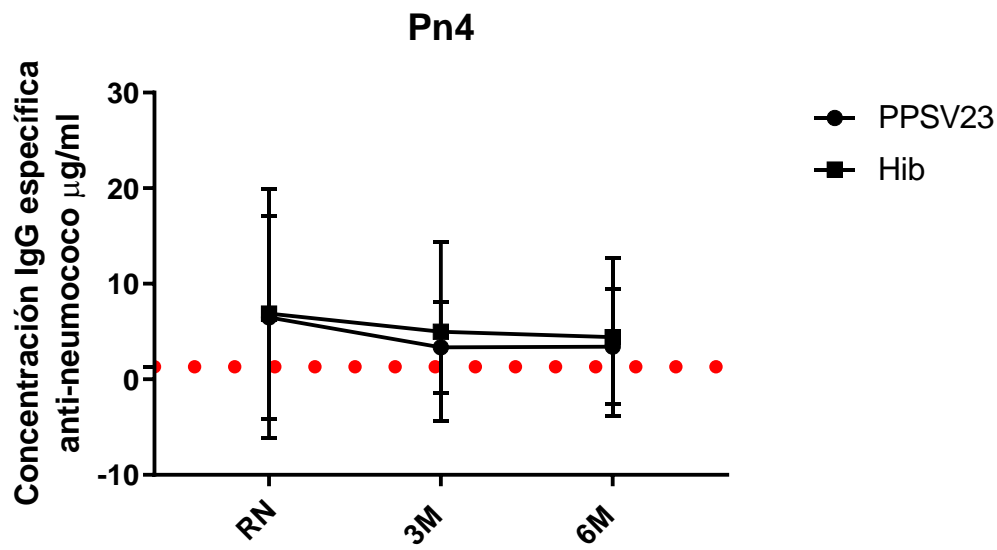


Figura 5. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn5 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.

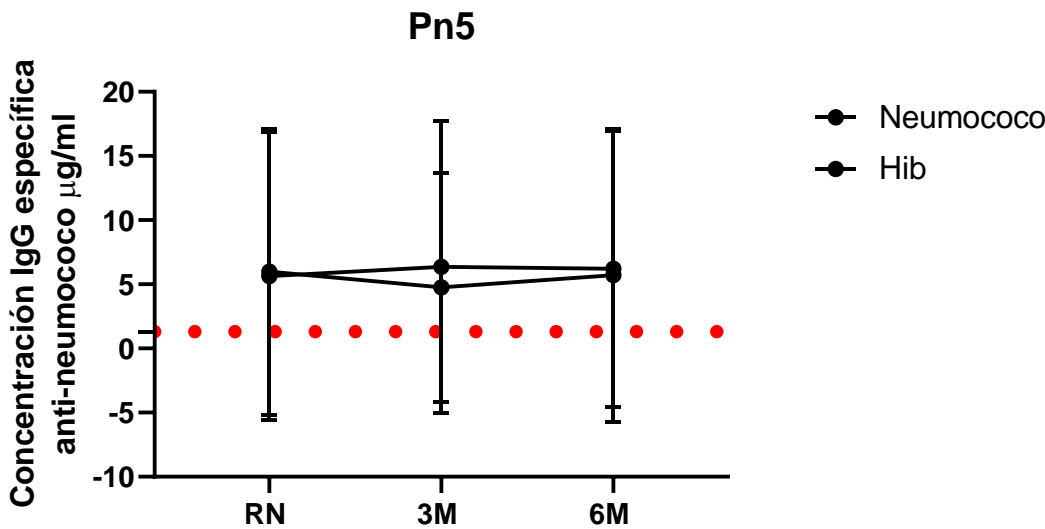


Figura 6. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn14 durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.

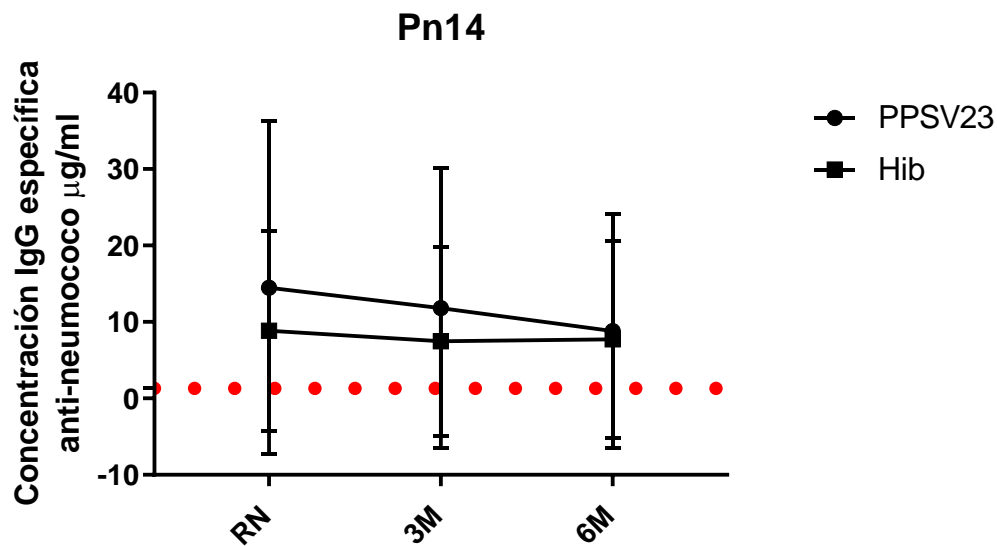


Figura 7. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas antipolisacárido del Pn19F durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.

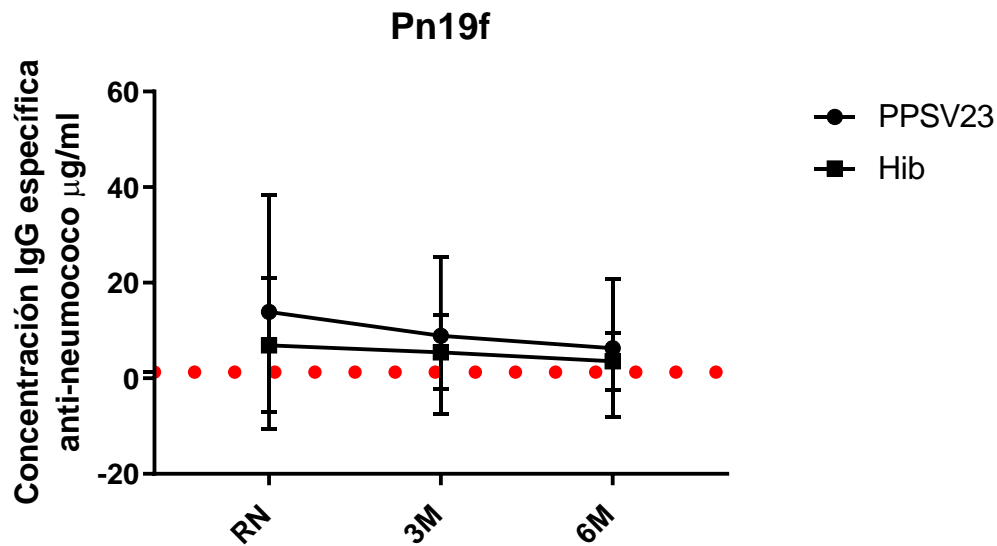
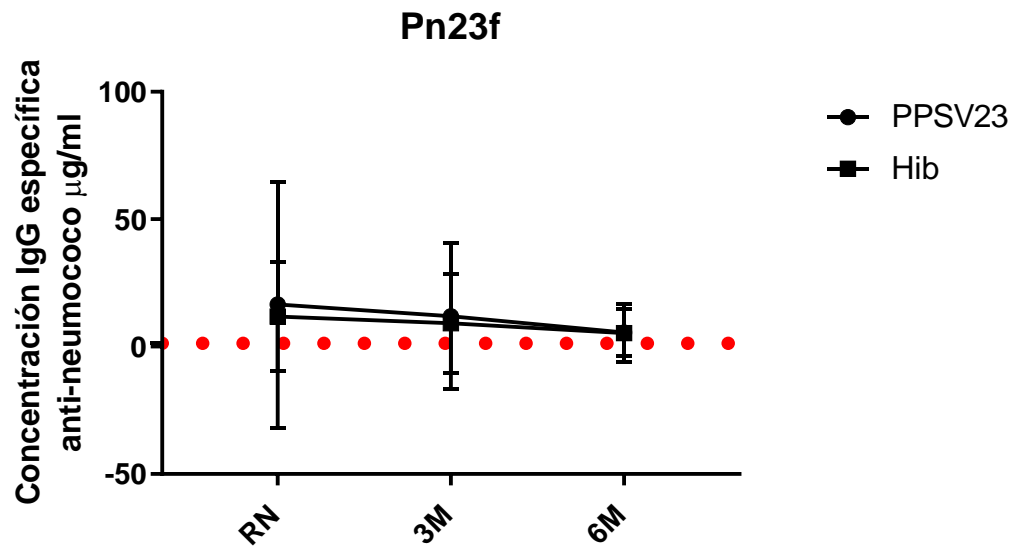


Figura 8. Comportamiento de las concentraciones de Ig-G específicas anti polisacárido del Pn23F durante los primeros 6 meses para los niños hijos de madres vacunadas.



En los siete polisacáridos evaluados, no hubo significancia estadística al comparar el grupo de niños hijos de madres vacunadas con PPSV23 con el grupo control en los tres momentos de las tomas de las muestras (Tabla 1).

Tabla 1. Concentraciones medias para cada polisacárido al nacimiento, a los tres meses y a los seis meses.

| | RECIEN NACIDO | | | 3 MESES | | | 6 MESES | | |
|-------|---------------|-------|-----|---------|-------|-----|---------|-------|-----|
| | PPSV23 | Hib | P& | PPSV23 | Hib | P& | PPSV23 | Hib | P& |
| Pn1 | 12,9* | 8,3* | 0,2 | 8,4* | 10,3* | 0,6 | 6,2* | 11,2* | 0,2 |
| Pn3 | 5,5* | 7,0* | 0,5 | 3,5* | 4,7* | 0,5 | 3,8* | 3,6* | 0,9 |
| Pn4 | 6,5* | 6,9* | 0,9 | 3,3* | 5,0* | 0,3 | 3,4* | 4,4* | 0,6 |
| Pn5 | 6,0* | 5,6* | 0,9 | 4,8* | 6,4* | 0,5 | 5,7* | 6,2* | 0,9 |
| Pn14 | 14,5* | 8,8* | 0,2 | 11,8* | 7,5* | 0,2 | 8,8* | 7,7* | 0,8 |
| Pn19f | 13,9* | 6,9* | 0,1 | 8,9* | 5,5* | 0,2 | 6,3* | 3,6* | 0,3 |
| Pn23f | 16,5* | 11,9* | 0,6 | 11,9* | 9,2* | 0,6 | 5,5* | 5,3* | 0,9 |

*Concentración media en µg/ml.

&Valor de P, multiple t-test.

Frente a todos los polisacáridos, la concentración media de inmunoglobulina G (IgG) específica a cada uno estuvo por encima del nivel de 1,3µg/ml al momento del nacimiento, observándose mayor respuesta en los niños de madres vacunadas con la PPSV23, a excepción de las IgG frente al polisacárido 3 y al polisacárido 4; sin embargo, hubo concentraciones por encima del valor protector para estos dos polisacáridos. Por otro lado, la mayor respuesta se presentó en las concentraciones de IgG contra el serotipo 23F, y, contrario a esto, la menor respuesta se observó en las concentraciones de Inmunoglobulina G frente al polisacárido 3 en los niños del grupo de la vacuna PPSV23 frente a neumococo (Tabla 1).

Al momento de los tres meses no hubo significancia estadística al realizar la comparación entre los dos grupos para todos los polisacáridos durante los tres momentos evaluados. Pero, los niveles estuvieron por encima de la concentración protectora para todos los polisacáridos, aunque haya habido disminución en la media de la concentración de las muestras.

Las concentraciones de IgG de mayor respuesta se observaron frente al polisacárido 23 F y al polisacárido 14. Por su parte, las concentraciones de IgG frente al polisacárido 4 y el polisacárido 3 representaron la menor respuesta.

El grupo control tuvo concentraciones de IgG superiores al grupo neumococo en los polisacáridos 1, 3, 4 y 5. Aun así, las concentraciones en el primer grupo estuvieron por encima del nivel de protección de 1,3 µg/ml.

A los seis meses, las concentraciones de IgG frente al polisacárido 14 fueron las de mayor respuesta, y el polisacárido 4 tuvo las concentraciones de IgG más bajas, siendo así el de menor respuesta. Los polisacáridos 1, 4 y 5 presentaron concentraciones de IgG más bajas que el grupo control. Sin embargo, todos los polisacáridos estuvieron por encima de la concentración protectora.

9. DISCUSIÓN

La inmunización durante el embarazo, especialmente en el tercer trimestre del embarazo, es una estrategia que se ha venido estudiando y que busca consolidarse como un método de protección al recién nacido y niños durante los primeros meses de vida frente a las enfermedades invasivas producidas por *S. Pneumoniae*⁽¹⁾.

La inmunogenicidad de la vacuna en mujeres embarazadas ya había sido estudiada y se había encontrado que los títulos aumentan por encima de valores protectores posterior a la administración de la misma, al mes de administrarla. Lo anterior, puede proteger a los recién nacidos al realizar la transferencia pasiva a través de la placenta, y eventualmente gracias a las concentraciones en la leche materna⁽⁵⁾.

Una vez se analizaron los resultados del presente estudio, inicialmente observamos la existencia de transferencia de IgG específica antipolisacárido en los dos grupos evaluados al momento del nacimiento; tanto para los vacunados frente a neumococo, como los vacunados frente a Hib. Esto fue para todos los polisacáridos, pero aquel con mayor respuesta de IgG específica fue el polisacárido 23f, algo que difiere frente a otros estudios, donde la mayor respuesta en general se presenta en el polisacárido 14.

Por otro lado, durante los primeros seis meses, las concentraciones medias para todos los polisacáridos (1,3,4,5,14,19f y 23f) estuvieron por encima del nivel protector, especialmente en los primeros tres meses, sin embargo, la diferencia con el grupo vacunado frente a Hib no fue notoria. A pesar de no haber diferencia notoria con el grupo control, puede ser una estrategia en salud pública ^(1,5,6) para cubrir los primeros 2 meses de vida, en los cuales la incidencia se mantiene elevada y hay mayor mortalidad por enfermedad invasiva.

Quiambao y cols., para el año 2005⁽⁶⁾, realizaron uno de los primeros estudios que comprobaron, primero la protección para el 60% de su población estudiada, sin embargo, con un nivel de 0,34 µg/ml, una concentración por debajo de lo establecido para el nuestro, esto debido que para el momento la OMS no había dado la recomendación de concentraciones protectoras. Además, ellos predijeron una disminución que, para los 4 meses, la mayoría de polisacáridos se acercaban a una concentración de 4,4 µg/ml. En este sentido, es una concentración que se acerca a algunos de nuestros polisacáridos evaluados al momento de los 3 meses. Por el contrario, el estudio no llegó a una evaluación más allá de los 4 meses y solo realizaron predicciones según de la velocidad calculada en la disminución de la concentración según la edad.

En el año 2016 se publicó un estudio por parte de N. Berezin y cols.⁽¹⁾, los cuales realizaron un estudio similar al nuestro; hicieron mediciones tanto en madres al mes de haberlas vacunados, como en los niños al mes de nacimiento y a los seis meses, y esto se hizo frente a tres polisacáridos específicos: 1, 6B y 14. Estos resultados se compararon con un grupo control que no fue vacunado. Las concentraciones de las IgG específicas se mantuvieron durante todo el tiempo por encima del nivel protector.

Diversos autores han mostrado han documentado el comportamiento de los niveles de IgG después de la vacunación con la PPSV23; Lehmann y cols(26), describieron aumento en las concentraciones frente a los serotipos 5, 14 y 19f. Muñoz y cols.⁽¹⁵⁾, mostraron un aumento en la concentración de las IgG frente a los polisacáridos 6B y 19f. En nuestro estudio, se encontró que, al momento del nacimiento, el 80% de los niños estuvieron por encima de los niveles protectores frente a todos los polisacáridos. El mayor porcentaje de protección se observó frente al polisacárido 23f; por el contrario, aquel de menor respuesta fue el polisacárido 3, en congruencia con otros estudios.

Muñoz y cols., también concluyeron la persistencia de concentraciones de IgG frente a serotipos específicos de polisacáridos hasta los 7 meses. Así mismo, Lehmann destacó la disminución de forma importante a partir de los 4 meses. En nuestro estudio, se midieron hasta los seis meses, y aunque hubo disminución en la concentración media para todos los polisacáridos, todos continuaron con niveles protectores llegado este momento.

Actualmente, el periodo crítico es hasta los 2 meses, momento en el cual se administra la primera dosis de la PCV13, según el PAI, y empieza a disminuir la morbimortalidad por neumococo.

Según lo anterior, la inmunización materna durante el tercer trimestre puede ser una estrategia potencial para realizar el cubrimiento durante los primeros meses de vida, hasta el momento que se recibe la primera dosis de la vacuna conjugada. Con esto, se podría prevenir eventos de enfermedad de tipo invasiva del neumococo e impactar la morbimortalidad en niños durante sus primeros meses de vida.

10. CONCLUSIONES

A partir de los resultados y la discusión podemos concluir que hay transferencia de anticuerpos de las madres previamente inmunizadas, en los dos grupos; tanto el vacunado frente a Hib y los vacunados con la vacuna polisacárida de 23 valencias (PPSV23). Esto garantiza la protección en el 80% del grupo de la PPSV23 al momento del nacimiento, en comparación con el grupo control, siendo el polisacárido 23 el de mayor respuesta.

Al momento de evaluar los otros dos momentos, al tercer y sexto mes, se evidenció que la mayoría de la población continuó con niveles protectores desde el nacimiento hasta los seis meses. Dentro de este análisis, aquel serotipo con mayor respuesta de IgG fue el 23f, el cual estuvo siempre por encima del grupo control, que, aunque fueron hijos de madres vacunadas frente a Hib, presentaron niveles elevados durante los seis meses evaluados.

Sin embargo, al momento de comparar los dos grupos, no hubo diferencia estadísticamente significativa, pero las concentraciones de IgG frente a todos los polisacáridos estuvieron por encima del nivel protector.

En conclusión, se comprueba que hay paso transplacentario de IgG específicas antipolisacárido en los niños hijos de madres vacunadas con PPSV23, y esto garantiza niveles protectores durante los primeros seis meses de vida, logrando ser un mecanismo de inmunización pasiva en los niños antes de recibir su primera dosis de PCV13, según el PAI de nuestro país.

11. RECOMENDACIONES

Se recomienda finalizar el análisis de todas las muestras de los 140 niños y realizar la comparación completa de los dos grupos, para ampliar el grado de confiabilidad del estudio.

Así mismo, realizar un estudio a futuro con un grupo control que no sea intervenido con ninguna vacuna y de esta forma la investigación sea más confiable.

Ampliar la evidencia para consolidar esta estrategia para inmunizar a los niños durante sus dos primeros meses de vida y prevenir enfermedades de tipo invasiva por neumococo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Berezin EN, Lopes CC, Cardoso MRA. Maternal Immunization with Pneumococcal Polysaccharide Vaccine: Persistence of Maternal Antibodies in Infants. *J Trop Pediatr* [Internet]. 2016;fmw060. Available from: <https://academic.oup.com/tropej/article-lookup/doi/10.1093/tropej/fmw060>
2. Lopes CRC, Berezin EN, Ching TH, Canuto J de S, Costa VO da, Klering ÉM. Ineffectiveness for infants of immunization of mothers with pneumococcal capsular polysaccharide vaccine during pregnancy. *Brazilian J Infect Dis* [Internet]. 2009;13(2):104–6. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702009000200006&lng=en&nrm=iso&tlng=en
3. Lopes CC, Berezin EN, Scheffer D, Huziwara R, Sliva MI, Brandão A, et al. Pneumococcal nasopharyngeal carriage in infants of mothers immunized with 23V non-conjugate pneumococcal polysaccharide vaccine. *J Trop Pediatr*. 2012;58(5):348–52.
4. Holmlund E, Nohynek H, Quiambao B, Ollgren J, Käyhty H. Mother-infant vaccination with pneumococcal polysaccharide vaccine: Persistence of maternal antibodies and responses of infants to vaccination. *Vaccine* [Internet]. 2011;29(28):4565–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.04.068>
5. Del S, En SP, Durante M, Tercer EL, Embarazo TDEL. No Title. 2009;
6. Quiambao BP, Nohynek HM, Käyhty H, Ollgren JP, Gozum LS, Gepanayao CP, et al. Immunogenicity and reactogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among pregnant Filipino women and placental transfer of antibodies. *Vaccine*. 2007;25(22):4470–7.
7. Guzmán M, Sánchez P. Frecuencia y distribución de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en Santafé de Bogotá.
8. Feldman C, Anderson R. Review: Current and new generation pneumococcal vaccines. *J Infect* [Internet]. 2014;69(4):309–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2014.06.006>
9. Berical AC, Harris D, Dela Cruz CS, Possick JD. Pneumococcal vaccination strategies: An update and perspective. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13(6):933–44.
10. Daniels CC, Rogers PD, Shelton CM. A Review of Pneumococcal Vaccines: Current Polysaccharide Vaccine Recommendations and Future Protein Antigens.

JPPT J Pediatr Pharmacol Ther J Pediatr Pharmacol Ther. 2016;2721(11):27–35.

11. Soto-Noguerón A, Carnalla-Barajas MN, Solórzano-Santos F, Arrendondo-García JL, Arzate-Barbosa P, Tinoco-Favila JC, et al. Streptococcus pneumoniae as cause of infection in infants less than 60 days of age: Serotypes and antimicrobial susceptibility. *Int J Infect Dis*. 2016;42:69–73.

12. Hausdorff WP, Bryant J, Kloek C, Paradiso PR, Siber GR. The Contribution of Specific Pneumococcal Serogroups to Different Disease Manifestations: Implications for Conjugate Vaccine Formulation and Use, Part II. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2000;30(1):122–40. Available from: <https://academic.oup.com/cid/article-lookup/doi/10.1086/313609>

13. Diseases LI. Efficacy of pneumococcal conjugate vaccines and their effect on carriage and antimicrobial resistance. 2001;1(September):85–91.

14. Carvalho BT, Carneiro-Sampaio MM, Solé D, Naspitz C, Leiva LE, Sorensen RU. Transplacental transmission of serotype-specific pneumococcal antibodies in a Brazilian population. *Clin Diagn Lab Immunol* [Internet]. 1999;6(1):50–4. Available from:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=95659&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

15. Munoz FM, Englund JA, Cheesman CC, Maccato ML, Pinell PM, Nahm MH, et al. Maternal immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine in the third trimester of gestation. *Vaccine*. 2001;20(5–6):826–37.

16. Plosker GL. 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: A review of its use in infants, children, and adolescents. *Pediatr Drugs*. 2013;15(5):403–23.

17. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. Streptococcus pneumoniae: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2018; Available from: <http://www.nature.com/articles/s41579-018-0001-8>

18. Stupka J, Mortensen E, Anzueto A, Restrepo MI. Community-acquired pneumonia in elderly patients. *NIH Public Access*. 2010;5(6):763–74.

19. Krone CL, Biesbroek G, Trzciński K, Sanders EAM, Bogaert D. Respiratory microbiota dynamics following Streptococcus pneumoniae acquisition in young and elderly mice. *Infect Immun*. 2014;82(4):1725–31.

20. Zhou JY, Isaacson-Schmid M, Utterson EC, Todd EM, McFarland M, Sivapalan J, et al. Prevalence of nasopharyngeal pneumococcal colonization in children and antimicrobial susceptibility profiles of carriage isolates. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2015;39:50–2. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2015.08.010>

21. Singh A, Dutta AK. Pneumococcal Vaccines – How Many Serotypes are Enough? *Indian J Pediatr.* 2018;85(1):47–52.
22. Song JY, Nahm MH, Moseley MA. Clinical implications of pneumococcal serotypes: Invasive disease potential, clinical presentations, and antibiotic resistance. *J Korean Med Sci.* 2013;28(1):4–15.
23. Ojal J, Hammitt LL, Gaitho J, Scott JAG, Goldblatt D. Pneumococcal conjugate vaccine induced IgG and nasopharyngeal carriage of pneumococci: Hyporesponsiveness and immune correlates of protection for carriage. *Vaccine* [Internet]. 2017;35(35):4652–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.05.088>
24. Cutts FT, Zaman SMA, Enwere G, Jaffar S, Levine OS, Okoko JB, et al. Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccine against pneumonia and invasive pneumococcal disease in The Gambia: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet (London, England).* 2002;365(9465):1139–46.
25. Camilli R, D'Ambrosio F, Del Grosso M, de Araujo FP, Caporali µG, Del Manso M, et al. Impact of pneumococcal conjugate vaccine (PCV7 and PCV13) on pneumococcal invasive diseases in Italian children and insight into evolution of pneumococcal population structure. *Vaccine* [Internet]. 2017;35(35):4587–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.010>
26. Lehmann D, Pomat WS, Combs B, Dyke T, Alpers MP. Maternal immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine in the highlands of Papua New Guinea. *Vaccine.* 2002;20(13–14):1837–45.

ANEXOS

Anexo A. Instrumento de recolección de datos.



El objetivo de este trabajo es determinar la duración de los títulos de IgG específicas anti –polisacáridos para los serotipos 1, 3, 4., 5, 6B, 9V, 18C, 19F Y 23F en niños que son hijos de madres vacunadas en el tercer trimestre con la vacuna polisacárida de 23 valencias anti-neumococo.

Variables:

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|--|
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 1 al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 3 al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 4 al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 5 al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 6B al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 9V al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 14 al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 18C al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 19F al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 23F al nacimiento. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 1 a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 3 a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 4 a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 5 a los tres meses. | |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------|--|
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 6B a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 9V a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 14 a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 18C a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 19F a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 23F a los tres meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 1 a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 3 a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 4 a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 5 a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 6B a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 9V a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 14 a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 18C a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 19F a los seis meses. | |
| Concentración de IgG específica anti polisacárido 23F a los seis meses. | |

| 2018 | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|-----|-----|-----|
| ACTIVIDADES | ENERO | FEBRERO | MARZO | ABRIL | MAYO | JUNIO | JULIO | AGOST | SEPT | OCT | NOV | DIC |
| Elaboración del proyecto | X | X | X | X | X | X | X | X | | | | |
| Prueba piloto | | | | | | | X | X | X | | | |
| Aprobación de comité de ética* | | | | | | | | | | | | |
| Recolección de datos | | | | | | | | | | X | X | X |
| Análisis | | | | | | | | | | | | |
| Discusión | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración final | | | | | | | | | | | | |

Anexo B. Cronograma de actividades.

| | 2019 | | | | | | | | | |
|--------------------------------|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|--------|------------|---------|
| ACTIVIDADES | ENERO | FEBRERO | MARZO | ABRIL | MAYO | JUNIO | JULIO | AGOSTO | SEPTIEMBRE | OCTUBRE |
| Elaboración del proyecto | | | | | | | | | | |
| Prueba piloto | | | | | | | | | | |
| Aprobación de comité de ética* | | | | | | | | | | |
| Recolección de datos | | | | | | | | | | |
| Análisis | | | | | | | | | | |
| Discusión | X | X | X | | | | | | | |
| Elaboración final | | | | X | X | X | X | X | X | X |

Anexo C. Presupuesto de gastos.

MATERIALES Y SUMINISTROS

| MATERIALES Y REACTIVOS | RECURSOS USCO |
|-----------------------------|---------------|
| PBS | 500.000 |
| TWEEN 20 | 600.000 |
| POLISACARIDOS DE PNEUMOCOCO | 10.000.000 |
| CONJUGADO | 1.000.000 |
| TMB | 1.000.000 |
| PEROXIDO DE HIDROGENO | 3.000 |
| DMSO | 500.000 |
| ACIDO SULFURICO | 400.000 |
| PLACAS CORNING | 1.000.000 |
| PIPETA MULTICANAL | 2.000.000 |
| PUNTAS DESECHABLES | 200.000 |
| TUBOS DE PLASTICO | 200.000 |
| PIPETA VOLUMETRICAS (10ML) | 1.000.000 |
| PAPEL ABSORBENTE | 100.000 |
| TOTAL | 18.503.000 |

Recursos adquiridos a través de convocatorias COLCIENCIAS y vicerrectoría de Investigación y proyección social USCO.

EQUIPOS

| EQUIPOS | RECURSOS USCO (horas de uso) |
|-------------------|------------------------------|
| Espectrofotómetro | 100.000 |
| Lavador | 80.000 |
| Nevera | 100.000 |
| TOTAL | 280.000 |

GASTOS PERSONALES

| INVESTIGADOR/EXPERTO/AUXILIAR | FORMACION ACADEMICA | FUNCION DENTRO DEL PROYECTO | DEDICACION | RECURSOS |
|-------------------------------|----------------------|---------------------------------|---------------------|-------------|
| Jairo Rodríguez | Post-Doctorado | Autor del proyecto. | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |
| Carlos F Narváz | Post-Doctorado | Dirección y tutoría | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |
| Diana M Castañeda | Magister | Dirección, tutoría y ejecución. | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |
| Dolly Castro | Magister | Tutoría | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |
| Doris Salgado | Infectologa-Pediatra | Recolección de muestra. | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |
| Martha Rocío Vega | Pediatra | Recolección de muestra. | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |
| Duván Andrés González | Bachiller | Ejecución | 6 horas a la semana | \$1.400.000 |