

**CARACTERIZACIÓN INMUNOLÓGICA Y DE ANTICUERPOS IgG
ANTINEUMOCOCOS TRANSPLACENTARIOS PREDOMINANTES EN HIJOS DE
MADRES VACUNADAS CON LA VACUNA ANTINEUMOCÓCICA 23-VALENTE
EN EL TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO**

**CRISTIAN RAMIRO SUAZA ESPINOSA
DIEGO JOSE VALDERRAMA GONZALEZ**

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2009**

**CARACTERIZACIÓN INMUNOLÓGICA Y DE ANTICUERPOS IgG
ANTINEUMOCOCOS TRANSPLACENTARIOS PREDOMINANTES EN HIJOS DE
MADRES VACUNADAS CON LA VACUNA ANTINEUMOCÓCICA 23-VALENTE
EN EL TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO**

**CRISTIAN RAMIRO SUAZA ESPINOSA
DIEGO JOSE VALDERRAMA GONZALEZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de MEDICO y
CIRUJANO**

Asesores

**JAIRO ANTONIO RODRÍGUEZ MD PHD
Medico Inmunólogo**

**DOLLY CASTRO BETANCOURT
Enfermera Especialista en Epidemiología**

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE SALUD
PROGRAMA DE MEDICINA
NEIVA - HUILA
2009**

Nota de aceptación:

Firma presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Neiva, Noviembre 25 de 2009

DEDICATORIA

A Dios por ser quien guía cada paso que damos,

A nuestros padres y hermanos quienes con sus grandes esfuerzos, fueron nuestro principal apoyo y motivación para no decaer en el camino;

A todos aquellos que hicieron posible la realización de este trabajo

CRISTIAN RAMIRO
DIEGO JOSE

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos

A nuestras familias que con paciencia nos han acompañado en este proceso de formación y que en los momentos más difíciles siempre estuvieron presentes para apoyarnos.

A quienes con su aporte y colaboración este trabajo finalmente culmina con una gran proyección y muchos sueños por realizar.

A todos mil gracias.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	14
1. ANTECEDENTES	15
2. DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	19
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. OBJETIVOS	24
4.1 OBJETIVO GENERAL	24
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
5. MARCO TEÓRICO	25
5.1 DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGIA	25
5.2 FISIOPATOLOGIA	28
5.3 RESPUESTA DEL HUÉSPED	29
5.4 RESPUESTA NEONATAL	30
5.5 INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS EN MENORES DE 5 AÑOS	32
5.6 INMUNIZACIÓN	35

	Pág.	
5.7	REACTIVIDAD CRUZADA	36
6.	PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS	37
7.	DISEÑO METODOLOGICO	38
7.1	TIPO DE ESTUDIO	38
7.2	POBLACION, MUESTRA, MUESTREO	38
7.3	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	38
7.4	TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	39
7.5	PROCEDIMIENTOS	41
7.6	INSTRUMENTOS	41
7.7	PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS	41
7.8	CONSIDERACIONES ÉTICAS	42
8.	RESULTADOS	43
8.1	CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS	43
8.2	PERFIL INMUNOLÓGICO	44
8.3	CONCENTRACIONES DE LOS ANTICUERPOS SEROTIPO-ESPECÍFICOS Y PASO TRANSPLACENTARIO	46
8.4	SEGUIMIENTO HASTA LOS 6 MESES DE VIDA	48

	Pág.
9. DISCUSIÓN	50
10. CONCLUSIONES	53
11. RECOMENDACIONES	54
BIBLIOGRAFIA	55
ANEXOS	61

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Perfil inmunológico de los niños vacunados y no vacunados	45
Figura 2.	Concentración de IgG serotipo específicos al 1 ^o mes, grupo estudio vs grupo control; indicando mediana de cada grupo, valor P, y límite de protección de la vacuna 1.3 µg/ml (línea punteada)	46
Figura 3.	Curva de seguimiento de las concentraciones al 1 ^o , al 3 ^o , y al 6 ^o mes de vida, de los anticuerpos serotipo-específicos; comparando los dos grupos, indicando su mediana, y límite de protección de la vacuna en 1.3 µg/ml (línea punteada)	49

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Operacionalización de variables	38
Tabla 2.	Características socio demográficas de la población	43
Tabla 3.	Cantidad de Muestras tomadas al 1, a los 3 y a los 6 meses de vida	44
Tabla 4.	Cronograma de actividades	69
Tabla 5.	Presupuesto global de la propuesta por fuentes de financiación (en miles de \$)	70
Tabla 6.	Descripción de los gastos de personal (en miles de \$)	70
Tabla 7.	Descripción de los equipos que se planea adquirir (en miles de \$)	71
Tabla 8.	Descripción y cuantificación de los equipos de uso propio (en miles de \$)	71
Tabla 9.	Descripción del software que se planea adquirir (en miles de \$)	71
Tabla 10.	Descripción y justificación de los viajes (en miles de \$)	72
Tabla 11.	Materiales y suministros (en miles de \$)	72
Tabla 12.	Otros recursos (en miles de \$)	73

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Formato de recolección de datos	62
Anexo B. Consentimiento informado: vacunación de la madre	63
Anexo C. Consentimiento informado vacunación de la madre	65
Anexo D. Consentimiento informado. toma de muestra nasofaríngea y de suero	66
Anexo E. Cronograma de actividades	69
Anexo F. Presupuesto	70

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Las neumonías y meningitis por *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) causan casi 2 millones de muertes en niños, incluyendo menores de tres meses de edad. El neumococo se clasifica en más de 90 serotipos, pero sólo aproximadamente 15 están involucrados con enfermedad invasora. La vacuna antineumocócica 23-valente no induce una buena respuesta humoral en niños menores de 2 años, quienes son el principal grupo poblacional afectado por la infección. Por lo tanto se hace necesario explorar una estrategia para inmunizar eficientemente a los niños menores. La vacunación de las madres durante el tercer trimestre embarazo y el traspaso de anticuerpos transplacentarios específicos puede ser una buena alternativa.

OBJETIVO: Analizar el perfil inmunológico y la presencia de inmunoglobulinas antineumococo serotipo-específicas en niños en el primer, tercer y sexto mes de vida cuyas madres fueron vacunadas en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23 Valente antineumocócica.

RESULTADOS: Este es un ensayo aleatorizado en los que se determinó el perfil inmunológico, además de las concentraciones de inmunoglobulinas serotipo-específicas de 133 niños hijos de mujeres vacunadas en el tercer trimestre de embarazo, la mitad de ellas vacunadas con la vacuna 23-valente y el resto vacunadas contra el *Haemophilus Influenzae* (grupo control). Los títulos de IgG específicos se determinaron usando la técnica de ELISA. Se encontró un pequeño porcentaje de paso transplacentario para los serotipos 5, 14, 23, 26 y 56 en los hijos de madres vacunadas con la vacuna 23 valente ($p < 0.03$, Mann-Whitney test) al mes de vida, mientras que a los 3 y 6 meses solo persistieron concentraciones de IgG para los serotipos 14 y 26.

CONCLUSIONES: De los datos obtenidos podemos concluir que contamos con dos grupos similares en su caracterización inmunológica debido a que la vacuna no es reactogénica en el recién nacido. También se evidencio el paso transplacentario para los serotipos 5, 14, 23, 26 y 56 en los hijos de madres vacunadas con la vacuna 23 valente ($p < 0.03$, Mann-Whitney test) al mes de vida, mientras que en su seguimiento hasta los 6 meses solo persistieron concentraciones de IgG para los serotipos 14 Y 26 por encima de los límites de protección (1.3 $\mu\text{g/ml}$). Esto nos indica que la vacuna induce el paso transplacentario.

PALABRAS CLAVES: *Streptococcus Pneumoniae*, perfil inmunológico, paso transplacentario, vacuna neumó-23

SUMMARY

INTRODUCTION: The incidence of pneumonia and meningitis caused by *Streptococcus Pneumoniae* (pneumococcus) causes nearly 2 million deaths in children, including children under three months old. The pneumococcus is classified in more than 90 serotypes, but only about 15 are involved with invasive disease. The 23-valent pneumococcal vaccine does not induce a good humoral response in children younger than 2 years, who are the main population group affected by the infection. Therefore it is necessary to explore a strategy to efficiently immunize young children. The vaccination of mothers during the third trimester pregnancy and transplacental transfer of specific antibodies may be a good alternative.

OBJECTIVE: To assess the immunological profile and the presence of pneumococcal serotype-specific immunoglobulins in children in the first, third and sixth month of age whose mothers were vaccinated during the third trimester of pregnancy with 23-valent pneumococcal vaccine.

RESULTS: This is a randomized trial it was determined the immunological profile, as well as the concentrations of serotype-specific immunoglobulins of 133 children born to women vaccinated in the third trimester of pregnancy, half of those vaccinated with 23-valent vaccine and vaccinated against *Haemophilus Influenzae* rest (control group). The specific IgG titers were determined using ELISA. We found a small percentage of transplacental transfer for serotypes 5, 14, 23, 26 and 56 in offspring of mothers vaccinated with the 23-valent vaccine ($p < 0.03$, Mann-Whitney test) per month of life, while the 3 and 6 months only persisted IgG levels for serotypes 14 and 26.

CONCLUSIONS: From the data we can conclude that we have two groups similar in their immunological characterization because the vaccine is not reactogenic in the newborn. It also emerged transplacental transfer for serotypes 5, 14, 23, 26 and 56 in offspring of mothers vaccinated with the 23-valent vaccine ($p < 0.03$, Mann-Whitney test) per month of life, while its follow up 6 months IgG concentrations persisted only for serotypes 14 and 26 over the protection limits (1.3 mg / ml). This indicates that the vaccine induces the transplacental transfer.

KEYWORDS: *Streptococcus Pneumoniae*, Immunological profile, transplacental transfer, pneumo-23 vaccine.

INTRODUCCIÓN

Las neumonías y meningitis por *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) causan casi 2 millones de muertes en niños, incluyendo menores de tres meses de edad. El neumococo se clasifica en más de 90 serotipos, pero sólo aproximadamente 15 están involucrados con enfermedad invasora.

La vacuna antineumocócica 23-valente induce una buena respuesta humoral en niños mayores de 2 años. La vacuna conjugada se aplica a partir de los dos meses de edad, por lo que se hace necesario idear una estrategia para proteger esos niños, por ello la vacunación durante el embarazo con la vacuna 23-valente inductora del traspaso de IgG específica hacia el feto y la síntesis de IgA del calostro pueden ser efectivas. La enfermedad invasiva neumocócica se correlaciona con colonización nasofaríngea previa por serotipos potencialmente invasores. No se han determinado los cambios que ocurren después de la vacunación materna en la colonización nasofaríngea materna y el efecto potencial en la nasofaringe del niño.

El objetivo planteado es evaluar la capacidad de la inmunización materna con la vacuna antineumocócica 23-valente, en el tercer trimestre de gestación, como una estrategia para disminuir la colonización nasofaríngea en el niño por diez serotipos comúnmente asociados con infecciones invasoras. Para cumplirlo proponemos realizar un ensayo clínico doble ciego, aleatorizado en 2 grupos de mujeres en el tercer trimestre de embarazo de bajo riesgo obstétrico. Al primer grupo, se les inmunizará con la vacuna 23-valente y mientras que el grupo control se inmunizará contra el *Haemophilus influenzae*.

1. ANTECEDENTES

El *Streptococcus pneumoniae* fue el agente causal más común de neumonía entre 1880-1890. En 1926 se le denominó *Diplococcus pneumoniae* y en 1974 pasó a llamarse *Streptococcus pneumoniae*.¹

En 1990 “se identificó la existencia de serotipos neumocócicos al observar que la inyección de microorganismos muertos en un conejo estimulaba la producción de anticuerpos séricos que aglutinaba y aumentaba la densidad capsular de la cepa inmunizante. Hasta el momento se conocen 90 serotipos, cada uno con cápsula de polisacáridos específica.”²

En el mundo, “Las neumonías y meningitis causadas por *Streptococcus pneumoniae* son en la actualidad unas de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la población en los extremos de la vida, tanto en países industrializados como en vías de desarrollo”³

En nuestro país, en 1994, por medio del proyecto del Sistema Regional de Vacunas (SIREVA) de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), se inició la vigilancia de la distribución de los diferentes tipos capsulares y la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *S. pneumoniae* causantes de enfermedad invasora en niños menores de 6 años.⁴

“En un estudio realizado en Bogotá, Medellín y Cali se recolectaron 324 aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* para enfermedades invasivas, 238 (73.5%) para menores de 2 años. Se encontró Neumonía en 41,3% de los casos, Meningitis en 41% y sepsis en 11.2%”⁵. A nivel regional, en el año 2002 se reportaron 2 casos por *Streptococcus pneumoniae*, los 2 casos se registraron en la ciudad de Neiva con una tasa de mortalidad de 4.3 por 100.000 habitantes. En el año 2004 la Secretaría de Salud municipal de Neiva notificó 17 casos de meningitis en niños y 11 en niñas.⁶

En el Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo (HUHMP) de Neiva en el año 2007 se presentó un proyecto de grado acerca de la Frecuencia de Neumonía y Meningitis ocasionadas por el *Streptococcus pneumoniae* por Dora Emilia Fierro y Cols en cuyos resultados sobre Meningitis realizados en 4 pacientes menores de 5 años, encontramos que “los signos y síntomas en primer

¹ Ibid., p.902.

² Ibid., p.903

³ MUSER DM. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. Clin Infect Dis 1992;14:801-7.

⁴ AGUDELO, Clara I. et al. *Streptococcus pneumoniae*: evolución de los serotipos y los patrones de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos invasores en 11 años de vigilancia en Colombia (1994 –2004). Biomédica 2006; 26:234-49

⁵ NOTI-NEUMO, Boletín del Protocolo Internacional Serotipificación de *Streptococcus pneumoniae*. N° 15. Instituto Nacional de Salud. Santa Fe de Bogotá. 1996

⁶ ALCALDÍA DE NEIVA, Secretaría de Salud municipal. Boletín epidemiológico. Vol 2 N° 11, Febrero 2005.

orden de frecuencia fueron fiebre, vómito, adinamia y astenia y en segundo orden fontanela abombada, somnolencia, irritabilidad y convulsiones". Además se encontraron que a 3 de los niños se estableció el agente etiológico de la Meningitis ocasionados por el *S. pneumoniae*.⁷ Actualmente no se han reportado estudios similares desde la fecha, lo que limita establecer una visión clara del impacto que genera esta patología en nuestra región.

Según el régimen de afiliación de los pacientes al Sistema General de Seguridad Social en Salud de Colombia, los casos se distribuyen así: 41,4% pertenecían al grupo denominado "vinculados" (no afiliados a la seguridad social), 37,5% al régimen contributivo y 21,1% al régimen subsidiado (cuadro 2). Esto implica que más de la tercera parte de los casos pertenecían a familias muy pobres⁸.

En cuanto al sexo, 58,2% fueron varones y 41,8% mujeres. Una proporción de 50,7% de los casos no tenía enfermedades subyacentes, mientras que 11,2% tenía síndrome anémico, 9,1% desnutrición, 6,3% neuropatías, 4,2% reflujo gastroesofágico y 7,0% prematuridad. El promedio de días de enfermedad previos a la hospitalización fue de 6,3 (IC95%, 5,8–6,8) en casos de neumonía presuntamente bacteriana y de 6,7 (IC95%, 3,8– 7,0) en casos de enfermedad viral. El promedio de estancia hospitalaria fue de 8,2 días (IC95%, 8,9–10,4) en casos de neumonía presuntamente viral y de 11,8 (IC95%, 9,9–13,6) en casos de neumonía presuntamente bacteriana.

El estado al egreso de 89,1% de los casos presuntamente virales y de 92,2% de los presuntamente bacterianos fue el de vivo sin secuelas (cuadro 3). Dos casos (3,2%) presuntamente virales culminaron en la muerte, al igual que uno (1,6%) de neumonía presuntamente bacteriana.

La estimación apropiada de los costos de cada caso se facilitó debido a que en los hospitales seleccionados rige un sistema de costos basado en actividades, según el cual el costo de un producto debe comprender tanto el generado por las actividades necesarias para fabricarlo y venderlo, como el costo propio de las materias primas. Posteriormente se estimaron los costos medios de cada intervención. Se diseñaron y aplicaron formularios de captura de información tanto para los costos directos como para los indirectos. La estimación de los costos directos se basó en los correspondientes a la atención hospitalaria, que se desglosaron en los diversos procesos de atención, particularmente en términos del número de días de estancia y los costos del tratamiento y diagnóstico. Asimismo, se calcularon los costos medios, con sus respectivos intervalos de confianza de 95% (IC95%). La información sobre los costos directos fue suministrada por los

⁷ FIERRO, Dora E. et al. Frecuencia en Neumonía y Meningitis ocasionada por el *Streptococcus pneumoniae* en niños menores de 5 años en el HUHMP. Neiva, 2007. Trabajo de Grado (Médico y Cirujano), USCO. Facultad de Salud. Programa de Medicina

⁸ R H, Leal A, De la Hoz F, et al. Vigilancia centinela de IRA baja por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Informe quincenal epidemiología nacional (IQUEN, Colombia) 1997:2(15).

sistemas de costos de los respectivos hospitales. Los costos se tasaron en pesos colombianos corrientes de cada año y se ajustaron a pesos constantes de 2002.

En 2000, la Food and Drug Administration (FDA) norteamericana, organismo regulador de medicamentos y alimentos en los Estados Unidos, aprobó la primera vacuna antineumocócica heptavalente conjugada: eso significa que protege contra siete de los serotipos más agresivos del neumococo y que estimula las células T o linfocitos del timo, que sí tienen memoria inmunológica y defenderán a los más chiquitos ante la bacteria.

Desde el momento de su aprobación se realizaron en los Estados Unidos distintos estudios para analizar la eficacia de su poder inmunizador y las primeras conclusiones están listas: la nueva vacuna disminuyó en más del 87% las enfermedades neumocócicas invasivas en bebés menores de un año y en un 62% en chiquitos de menos de cinco años.

Los costos económicos de las neumonías, muestran claras diferencias según el origen presuntamente viral o bacteriano. Esta diferencia se explica a expensas del costo de los medicamentos, especialmente de los antibióticos, así como de los servicios especiales y de las pruebas diagnósticas.

El número promedio de medicamentos administrados en un mismo momento fue de 4,8 (IC95%, 3,8–5,8) en el caso de las neumonías presuntamente bacterianas y de 3,6 (IC95%, 3,0–4,1) en el de las presuntamente virales. El número promedio de antibióticos fue de 2,5 (IC95%, 2,1–2,8) en casos de neumonías presuntamente bacterianas, con un costo medio de US\$ 36,80 (IC95%, 19,5–54,2). Dentro del grupo de "otros" medicamentos administrados se encuentran los líquidos endovenosos, los broncodilatadores, antieméticos, antiulcerosos, vitaminas y protectores cutáneos, entre otros, con un número promedio de administración de 3,8 (IC95%, 3,1–4,6) y un costo de US\$ 12,14 (IC95%, 7,8–16,5)⁹.

El número promedio de pruebas diagnósticas realizadas en cada paciente fue de 12,0 (IC95%, 9,5–14,6). Estas se clasificaron en microbiológicas, serológicas, químicas, al microscopio, banco de sangre, gases arteriales, imágenes radiológicas y otras (inmunológicas, hematológicas, hormonales, etc.). El número promedio de pruebas realizadas en casos de neumonías presuntamente virales fue de 6,8 (IC95%, 3,7–9,9) y en el de neumonías bacterianas, de 13,4 (IC95%, 8,8–18,0).

En un estudio doble ciego aleatorizado realizado en Filadelfia en 1999 se administró la vacuna polisacárida 23 valente y la vacuna conjugada *Haemophilus Influenzae* tipo b a 60 mujeres sanas en el tercer trimestre de la gestación. Se

⁹ LAGOS R, Di Fabio JL, Moenne K, MuMA, Wasserman S, de Quadros C. El uso de la radiografía de tórax para la vigilancia de neumonía presuntamente bacterianas en ni latinoamericanos. Rev Panam Salud Pública. 2003;13(5):294-302.

midieron los títulos totales de IgG1, IgG2 a los serotipos neumocócicos 6B, 14, 19F y 23 F por medio de ELISA en madres previa a la inmunización y post inmunización, y en infantes al nacimiento (sangre de cordón), a los 2 y 7 meses.

La IgA fue evaluada en leche materna a los 2 y 7 meses y la actividad opsonofagocítica en sangre de cordón. La vacuna polisacárida fue segura e inmunogénica en las madres gestantes. “La transmisión transplacentaria de anticuerpos específicos en la vacuna fue eficiente. La inmunización materna resultó en concentraciones significativamente altas de anticuerpos al nacimiento y a los 2 meses de edad y una gran actividad opsonofagocítica de la inmunidad pasiva adquirida por IgG”.¹⁰

Por otra parte, otro estudio aleatorizado¹¹ realizado en 106 Mujeres gestantes En Filipinas con la vacuna polisacárida 23 valente y el grupo control con 54 mujeres gestantes vacunadas con la vacuna conjugada *haemophilus Influenzae* tipo b y toxoide tetánico mostró en el grupo vacunado con la vacuna conjugada 23 valente que las concentraciones de anticuerpos de 0,35µg/ml sugiere umbral protector contra enfermedad invasiva. Alrededor del 90% de las madres tuvieron este nivel prevacunación. Considerando el decremento de la inmunidad pasiva y el crecimiento de la respuesta inmune del neonato, un nivel de anticuerpos en sangre de cordón de al menos 4,4 µg/ml es necesario si se busca que los niños sean protegidos por enfermedad invasiva hasta los 4 meses de edad.

¹⁰MUNOZA, Flor M. Janet A. Englund , et al. Maternal immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine in the third trimester of gestation. *Vaccine* 20 (2002) 826–837

¹¹QUIAMBAO, Beatriz P. Hanna M. Nohynek et al. Immunogenicity and reactogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among pregnant Filipino women and placental transfer of antibodies. *Vaccine* 25 (2007) 4470–4477

2. DESCRIPCIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) es el principal patógeno que causa infecciones adquiridas en la comunidad, como la neumonía, otitis, sinusitis, bacteriemia y meningitis. La inmadurez del sistema inmune para producir anticuerpos contra los antígenos polisacáridos del neumococo en niños menores de 2 años y una alta frecuencia de colonización pueden explicar la alta susceptibilidad a la infección neumocócica y su transmisión por vía hematógena y a una disminución de la efectividad de la vacuna polisacárida¹².

“El uso desenfrenado de los antimicrobianos ha traído como consecuencia la presentación cada vez más frecuente de reacciones adversas a los mismos, la emergencia de microorganismos multiresistentes, la predisposición a infecciones secundarias y finalmente el alto costo del cuidado médico. La terapia antimicrobiana de amplio espectro es responsable, al menos en parte, del incremento dramático de infecciones nosocomiales serias debido a *staphylococcus aureus* meticilino resistente, al igual que neumococo resistente a penicilina”¹³.

La gran morbimortalidad ocasionada por el neumococo en los primeros dos años de vida ha llevado a buscar estrategias que permitan disminuir su incidencia en este grupo poblacional. 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 ser humano.

Es importante evaluar la transmisión transplacentaria de los diferentes anticuerpos anti-neumococos en los neonatos. Algunos estudios sugieren que para las madres no inmunizadas el grado de reducción de las concentraciones de anticuerpos después de la adsorción con polisacárido 22F podría ser tan alto como la mitad o incluso 90% de la concentración inicial del anticuerpo para algunos serotipos¹⁴.

Un estudio realizado en Sao Paulo, Brazil, usando el método ELISA y suero de referencia revelaron que la transmisión transplacentaria de anticuerpos de las madres no inmunizadas contra los serotipos 3 y 14 estaban cerca de 100%. En el contraste, la transmisión de anticuerpos a serotipos 1, 6B, y 9V fueron de 77 a

¹² BERHMAN, Richard E. Nelson tratado de pediatría. 17° Edición. McGraw-Hill Interamericana. 2003.

¹³ SALINAS, Diego F. Estudio de la Resistencia antimicrobiana en el servicio de Medicina interna del HUHMP en hemocultivos y urocultivos. Neiva, 2006. 85p. Trabajo de postgrado(Medicina Interna). USCO. Facultad de Salud. Área de Medicina Interna.

¹⁴ CHUDWIN, D. S., D. W. Wara, G. Schiffman, S. G. Artrip, and A. J. Amman. 1985. Maternal-fetal transfer of pneumococcal capsular polysaccharide antibodies. Am. J. Dis. Child. 139:378–380.

83%, haciendo pensar en una respuesta predominante de IgG2 a estos serotipos¹⁵

Otro estudio mostró que la disminución en la concentración de anticuerpos efectuada por la adsorción con el polisacárido 22F es más alto para anticuerpos desarrollados después del contacto con serotipos de neumococo heterólogos o en la ausencia de contacto perceptible con el neumococo que por los anticuerpos desarrollados después de una infección específica o después de la inmunización. El estudio muestra que la adsorción con un polisacárido heterólogo, como el serotipo 22F, remueve una cantidad significativa de anticuerpos serotipo-específicos, cuando es determinado por ELISA, de las madres embarazadas y de los anticuerpos en la sangre del cordón de sus hijos y durante el primer año de vida¹⁶.

Se conoce que los anticuerpos IgG contra los polisacáridos confieren protección contra infecciones invasoras por el neumococo. Anticuerpos IgG1 e IgG2 confieren protección contra serotipos específicos del neumococo (Freidj A, et al., 1984; Barret D, et al., 1986) opsonizando el microorganismo y facilitando la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos (Gordon S, et al. 2000). Individuos que presentan inmunodeficiencia de IgG2 o de anticuerpos específicos anti-polisacáridos son susceptibles de padecer infección neumocócica (Sorensen R, et al., 1998a), también niños que presentan una mayor respuesta de IgG1 que de IgG2 tienen mayor tendencia a padecer de infecciones frecuentes por esta bacteria (Rodríguez JA, et al., 2004).

Por otra parte, anticuerpos IgA anti-polisacáridos pueden ser efectivos a nivel de las mucosas y por tanto tener actividad contra los serotipos causantes de otitis media. La IgA en combinación con componentes del complemento ayuda a la opsonización y a la fagocitosis del neumococo (Janoff E, et al., 1999). Más aún, fragmentos de C3d del complemento asociados a polisacáridos se ha encontrado que fijan CD21 (receptor CR2) en las células B (Griffioen A, et al., 1991). El CD21 se expresa en los linfocitos B y en las células dendríticas foliculares en la zona marginal del bazo (Peset Llopis L, et al., 1996), células que están ausentes en pacientes que sufren de anemia de células falciformes o de esplenectomía, condiciones que predisponen a las infecciones neumocócicas.

Hasta el momento se tienen siete serotipos asociados al TT, lo cual es una limitación en el número de serotipos administrados. Sin embargo, es importante

¹⁵ COSTA-CARVALHO, B. T., M. M. Carneiro-Sampaio, D. Sole, C. Naspitz, L. E. Leiva, and R. U. Sorensen. 1999. Transplacental transmission of serotypespecific pneumococcal antibodies in a Brazilian population. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 6:50–54.

¹⁶ INOSOSTRA J., Villanueva S., Mason K. Effects of adsorption with Pneumococcal type 22F polysaccharide on maternal, cord blood and infant immunoglobulin G antineumococcal polysaccharide antibodies. *CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY*, June 2005, p. 722–726

mencionar que en la vacuna heptavalente están incluidos los serotipos asociados con la resistencia a la penicilina. La vacuna conjugada incluye los serotipos 1, 5, 6B, 14, 18C, 19F, 23F (Sniadak, 1995), actualmente ya se están haciendo ensayos con una vacuna conjugada de 9 serotipos (Cutts FT, et al., 2005), incluso en combinación con vacuna conjugada contra el meningococo (Buttery JP, et al., 2005) y de 11 serotipos que tiene mayor cobertura (Nurkka et al., 2004). Si bien el número de polisacáridos conjugados se ha incrementado, la consecuencia es el aumento en el costo de la vacuna, lo que limita el acceso a la población blanco. Por otro lado, la primera dosis de la vacuna se aplica a los dos meses de edad excluyéndose a la población menor de esa edad que puede dar lugar al 20-30% de la enfermedad invasora neumocócica en el primer año de vida (WHO, 1999). Además se ha informado, con el uso de la vacuna conjugada, un desplazamiento de los serotipos colonizantes del neumococo hacia aquellos no vacunales, que son por lo general sensibles a la penicilina¹⁷.

En un estudio realizado en Guatemala se detectó 646 episodios de neumonía que dieron una incidencia de 0,34 episodios por niño por año en niños menores de 35 meses de edad. Esta incidencia fue muy parecida a la incidencia de 0,33 encontrada en la misma zona en un estudio realizado entre 1982 y 1984 . Según la edad, la incidencia de neumonía fue mayor entre los 2 y los 17 meses de edad, en donde fue de 0,40 episodios por niño/año. La incidencia fue ligeramente mayor en varones y en los meses del verano e invierno, siendo menor en mujeres y en los meses de la primavera y otoño¹⁸. De los 1.759 niños estudiados, 1.326 no tuvieron diagnóstico de neumonía; 474 niños tuvieron neumonía y 150 tuvieron más de un diagnóstico de neumonía. Se logró obtener radiografías de tórax (anteroposterior y laterales) en alrededor de 80% de los casos diagnosticados con neumonía. De ellos, se identificaron 162 casos de neumonías radiológicas, dando una incidencia de neumonía clínica con confirmación radiológica de 0,08 episodios por niño por año.

Es importante tener en cuenta que durante el primer año del estudio, el aparato de rayos X utilizado no tenía la velocidad y la potencia suficientes como para tomar radiografías en niños en movimiento, por lo que muchas radiografías presentaron problemas diagnósticos debido al movimiento del niño. El aparato se modificó al inicio del segundo año del estudio, permitiendo mejorar significativamente la calidad de las placas tomadas. Es posible que varias neumonías clínicas con placas negativas pudieran haber sido leídas como positivas si se hubiera contado con el equipo necesario desde el principio.

¹⁷ BOGAERT D, Veenhoven R, Sluijter M, Wannet W, Rijkers G, et al. 2005. Molecular epidemiology of pneumococcal colonization in response to pneumococcal conjugate vaccination in children with recurrent acute otitis media. *J. Clin. Microbiol.* 43: 74-83

¹⁸ ROA JA, Echandia CA. Emergencias y urgencias en pediatr neumon. Gu anticipatorias. 2ª ed. Cali, Colombia: Editorial Feriva; 2001.

Con base en esto, formulamos el siguiente problema de investigación:

Cúales son las inmunoglobulinas antineumococo serotipo-especificas presentes en niños en el primer, tercer y sexto mes de vida cuyas madres fueron vacunadas en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23 Valente antineumocóccica?

3. JUSTIFICACIÓN

Dado que las enfermedades neumocócicas representan hoy en día una de las principales consultas en el servicio de urgencias pediátricas, y que día a día va incrementándose el número de casos de Meningitis y Neumonías, es importante reconocer el impacto que se genera sobre la población infantil. Además es importante tener en cuenta que el cuadro clínico de los pacientes más jóvenes, tiende a ser bizarro, lo cual dificulta su diagnóstico temprano, y un tratamiento adecuado. A esto se suma la problemática de la mayoría de hospitales de Colombia y el mundo, el uso indiscriminado de antimicrobianos, lo cual genera un aumento de la resistencia en diferentes patógenos, y a la falta de vacunación contra el neumococo entre la población infantil.

La realización de este proyecto, aportaría a nuestra institución en la comunidad académica e investigativa, lo cual conlleva a un desarrollo de la misma. Además contribuiría al conocimiento, trabajo y desarrollo acerca del *Streptococcus pneumoniae* en el semillero de investigación. Además, este trabajo reafirmaría los resultados de otros estudios realizados anteriormente.

En nuestro hospital, sería importante al permitir identificar el fenómeno generado por este microorganismo que va en aumento cada año y así poder tomar medidas al respecto; como por ejemplo, mayor cobertura de vacunación contra el neumococo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Analizar el perfil inmunológico y la presencia de inmunoglobulinas antineumococo serotipo-específicas en niños en el primer, tercer y sexto mes de vida cuyas madres fueron vacunadas en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23 Valente antineumocócica.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir las características sociodemográficas de la población a estudio.
- Describir la evolución de los pacientes inmunizados y protección contra enfermedad neumocócica al mes, a los 3 meses y a los 6 meses de vida, comparado con el grupo vacunado por *Haemophilus influenzae*.
- Determinar y Comparar el perfil inmunológico de los niños vacunados y lo no vacunado.

Identificar los anticuerpos serotipo-específicos transplacentarios presentes en los niños hijos de madres vacunadas en el tercer trimestre del embarazo.

5. MARCO TEÓRICO

5.1 DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

El *Streptococcus pneumoniae* es un diplococo Gram positivo aerófilo considerado como la principal bacteria que afecta el tracto respiratorio de los niños menores de cinco años y de los ancianos. Da origen a diversas patologías como otitis media, sinusitis, neumonía, meningitis y artritis séptica por lo cual es capaz de generar la muerte en estos dos grupos de edad¹⁹. En Latinoamérica, “el Sistema Regional de Vacunas (SIREVA) de la Organización Panamericana de La Salud (OPS), analizó la incidencia de enfermedad neumocócica en 3.393 niños, 1.409 casos correspondieron a neumonías, de los cuales el 63,5% eran niños menores de dos años de edad”²⁰. La mortalidad ocasionada por la neumonía neumocócica es de 10 al 20% en países en vías de desarrollo lo cual puede incrementarse cuando se consideran individuos con alto riesgo de padecer infecciones por el neumococo. En estos países el 20 al 30% de las enfermedades invasoras neumocócicas del primer año de edad ocurre en niños menores de dos meses.

Cada año, alrededor de 1 millón de niños menores de 5 años mueren por enfermedades neumocócicas como la neumonía, meningitis, sepsis, la mayoría en países subdesarrollados²¹. La inmunización con la vacuna conjugada 7-valente o 9-valente (7vPCV ó 9vPCV) ha demostrado ser eficaz en la reducción de la morbilidad y mortalidad en niños durante los primeros 6 meses de vida²². Sin embargo, el *Streptococcus Pneumoniae* permanece como una importante causa de morbilidad y mortalidad en los primeros 3 meses de vida²³. En las tierras de Papúa Nueva Guinea la tasa de mortalidad por neumonía en infantes es de 25/1000 al año y el *S. Pneumoniae* se cuenta entre más de la mitad de los casos de neumonía y meningitis. Acelerar los esquemas de inmunización, incluyendo la vacunación neonatal en los grupos de población de alto riesgo, se ha considerado para inducir una protección temprana contra enfermedad neumocócica invasiva²⁴.

¹⁹ MUSER DM, Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment., Op Cit., p. 805.

²⁰ HORTAL M, Ruvinsky R, Rossi A, Agudelo CI, Castaneda E, Brandileone C, Camou T, Palacio R, Echaniz G, Di Fabio JL. 2000. Impact of *Streptococcus pneumoniae* on pneumonia in Latin American children. SIREVA-Vigia Group. Rev Panam Salud Pública; 8: 185–95.

²¹ The Lancet. The world's forgotten children. Lancet 2003;361(9351):1.

²² RENNELS MB, Edwards KM, Keyserling HL. Safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal vaccine conjugated to CRM197 in United States infants. Pediatrics 1998;101(4 pt1):604–11.

²³ SCHUTZE GE, Tucker NC, Mason Jr EO. Impact of the conjugate pneumococcal vaccine in Arkansas. Pediatr Infect Dis J 2004;23(12):1125–9.

²⁴ LEONARD EG, Canaday DH, Harding CV, Schreiber JR. Antigen processing of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine carrier protein CRM(197) differs depending on the serotype of the attached polysaccharide. Infect Immun 2003;71(7):4186–9.

En contraste con las vacunas polisacáridas neumocócicas, las vacunas conjugadas pueden obtener respuestas de memoria, incluso en niños jóvenes. La respuesta de memoria de las células T que es inducida contra la proteína transportadora (en la 7vPCV es una proteína mutante no tóxica de difteria, CMR197) es un factor clave en la inducción de protección a largo plazo al proporcionar ayuda a la respuesta polisacárido específica de las células B. En recién nacidos y lactantes la respuesta de las células T es inmadura y se caracteriza por la deficiencia de la respuesta Th1 y la reducida capacidad de inducir respuesta de memoria. De esta manera, la vacunación neonatal con vacunas conjugadas fallarían al proporcionar protección a largo plazo. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, las células T neonatales pueden inducir una respuesta intrínseca Th1 y esto ha sido demostrado con la vacuna BCG²⁵.

Un ensayo clínico controlado realizado en Papúa Nueva²⁶ Guinea con 318 neonatos para evaluar los efectos de la inmunización con la vacuna neumocócica conjugada 7-valente (7vPCV) en el desarrollo de las células T de memoria y seguimiento hasta los 3 meses; fue asociada con un mejoramiento de la respuesta Th2 y no Th1 sobre la CMR197 cuando se aplicó una dosis neonatal de 7vPCV seguida de otra dosis al 1 y 2 mes de vida. También se encontró un mejoramiento de la respuesta mediada por IL-6, IL-10 en el grupo de los neonatos vacunados con la 7vPCV que en el grupo control.

El reemplazo de serotipos en la era vacunal se ha demostrado en situaciones clínicas concretas (colonización nasofaríngea y otitis media)^{27,28} en determinadas poblaciones de riesgo (niños nativos de Alaska y adultos de 18 a 64 años con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana²⁹), y en los últimos años en la población general de Estados Unidos. La sustitución de unos serotipos por otros es un tema que preocupa, pero que no puede ensombrecer el gran beneficio de la vacunación: la importante disminución de la incidencia de la enfermedad invasiva por los serotipos vacunales obtenida en los países donde se han alcanzado elevadas coberturas (alrededor del 90% en Estados Unidos), como ya se observó en los ensayos clínicos de eficacia en la precomercialización.

Aparte de este efecto directo de la vacunación se observa el llamado “efecto indirecto” o disminución de la incidencia de la enfermedad invasiva en los niños y adultos no vacunados, debido a la inmunidad o protección de grupo, al disminuir la

²⁵ VEKEMANS J, Amedei A, Ota MO, D'Elios MM, Goetghebuer T, Ismaili J, et al. Neonatal bacillus Calmette-Guérin vaccination induces adult-like IFN- γ production by CD4+ T lymphocytes. *Eur Immunol* 2001;31(5):1531–5.

²⁶ VAN DEN BIGGELAARA, Anita. H.J., Richmond, Peter C. et al. Neonatal pneumococcal conjugate vaccine immunization primes T cells for preferential Th2 cytokine expression: A randomized controlled trial in Papua New Guinea. *Vaccine* 27 (2009) 1340–1347

²⁷ OOSTERHUIS-KAFEJA F, Beutels P, Van Damme P. Immunogenicity, efficacy, safety and effectiveness of pneumococcal conjugate vaccines (1998–2006). *Vaccine*. 2007;25:2194–212.

²⁸ KA'YHTY H, Auranen K, Nohynek H, Dagan R, Ma'kela H. The Pneumococcal Carriage group (PneumoCarr). Nasopharyngeal colonization: a target for pneumococcal vaccination. *Expert Rev Vaccines*. 2006;5:651–68.

²⁹ CDC and Prevention. Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction—Eight States, 1998–2005. *MMWR*. 2008;57:144–8.

colonización nasofaríngea en los inmunizados y, por tanto, la transmisión de los serotipos vacunales a las personas no vacunadas de su entorno³⁰.

El efecto indirecto depende de la cobertura vacunal y es importante en los estudios de eficiencia de la vacunación, aunque su evaluación es compleja. La inmunización tiene otros beneficios, como la disminución de la incidencia de manifestaciones clínicas no bacteriémicas, más frecuentes (otitis media y neumonía). Por último, las resistencias antimicrobianas se han reducido, ya que 5 (6B,9V,14,19Fy23F) de los serotipos vacunales eran los más resistentes³¹.

En España, según Fenoll et al³², la disminución de la resistencia a la penicilina ha sido del 50%, ya que estos 5 serotipos representaban el 85% de los resistentes. Sin embargo, otros factores han influido en la disminución de la resistencia a la penicilina, que se inició antes de la comercialización de la vacuna.

En España se ha observado también una disminución de la incidencia de la enfermedad invasiva después de la vacunación. En el País Vasco y Navarra, en niños menores de 5 años diagnosticados de bacteriemia, meningitis o neumonía bacteriémica, se ha encontrado que 2 años después de la introducción de la VNC7v, con una cobertura vacunal de entre el 28 y el 45%, la incidencia de la enfermedad había disminuido un 64,3% en los lactantes menores de 12 meses, un 39,7% en los niños menores de 24 meses y un 37,5% en los menores de 60 meses. Sin embargo, la incidencia por serotipos no vacunales permaneció prácticamente inalterada (el 19,2 frente al 18,7%)³³.

En Cataluña, en un estudio que compara la enfermedad invasiva antes(1997–1999) y después (2002–2004) de la comercialización de la VNC7v, se observa una disminución de la incidencia del 18% en los niños menores de 2 años (49,2 frente a 40,4 casos/100.000 habitantes) (p40,05), con una estrategia de vacunación individual selectiva, indicada por los pediatras, y una cobertura de alrededor del 35%¹⁸. Esta infra vacunación puede explicar la baja efectividad vacunal³⁴.

³⁰ CDC and Prevention. Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease. United States, 1998–2003. *MMWR*. 2005;54:893–7.

³¹ RUIZ-CONTRERAS J. Vacunas neumocócicas conjugadas: presente y futuro. *Enferm. Infecc Microbiol Clin*. 2008;26 (Supl1):48–55.

³² FENOLL A, Tarrago´ D, Casal J .Cambios epidemiológicos en España desde la introducción de la vacuna neumocócica heptavalente. En: Campins-Marti´ M, Moraga-Llop FA, editores. *Vacunas2007*. Madrid: GlaxoSmithKline; 2007. p. 137–49.

³³ ARÍSTEGUI J, Bernaola E, Pocheville I, García C, Arranz L, Durán G, et al. Reduction in pediatric invasive pneumococcal disease in the Basque Country and Navarra, Spain, after introduction of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.2007;26:303–10.

³⁴F.A. Moraga-Llop, et al. Pneumococcal disease and emergence of serotypes in the vaccine era. Transient trends and serotype replacement?. *Enferm Infecc Microbiol Clin*.2009;27(1):1–4

5.2 FISIOPATOLOGIA

El *S. Pneumoniae* forma parte de la flora microbiana normal de la nasofaringe en individuos sanos transmitiéndose fácilmente de persona a persona y en algunas ocasiones, puede diseminarse a través de las mucosas produciendo otitis media, sinusitis y neumonía o entrar a la circulación sanguínea y ocasionar infecciones invasoras como bacteremia y meningitis³⁵. El estado de portador nasofaríngeo es más frecuente en niños que en adultos y ellos pueden ser colonizados por más de un serotipo de neumococo al mismo tiempo. “La mayoría de los niños adquieren *S. pneumoniae* durante los primeros días de vida con tasas de colonización nasofaríngea que se incrementan con la edad, se estima que a los 2 meses el 9% de los niños están colonizados y éste porcentaje aumenta progresivamente hasta 43% a los 24 meses de edad. La colonización se favorece por el contacto con otros niños en las guarderías, ausencia de lactancia materna, tamaño de la familia, tratamiento antibiótico previo”³⁶.

El neumococo se caracteriza por la presencia de una cápsula de polisacáridos compuesta por residuos oligosacáridos repetidos, unidos covalentemente al peptidoglicano y al polisacárido C de la pared celular. La cápsula es la estructura más superficial y se ha evidenciado que juega un papel importante al evitar la lisis del microorganismo y la fagocitosis mediada por el complemento, anticuerpos naturales, o receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Más de 90 serotipos se han evidenciado de acuerdo con el tipo de polisacárido presente en la cápsula, pero de estos sólo aproximadamente 15 generan la mayoría de las enfermedades en el humano, la única especie afectada por el neumococo. En Colombia, “a través del programa 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”³⁷.

La metodología estandarizada para los estudios de colonización nasofaríngea recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), requiere el aislamiento del microorganismo por cultivo, la identificación y posterior serotipificación de por lo menos 3 colonias, convirtiendo esta metodología en dispendiosa, costosa, que requiere de personal experto lo que la hace poco funcional en el desarrollo de estudios de vigilancia epidemiológica.

³⁵ BOGAERT D, Op Cit., p. 77

³⁶ DAGAN R, Lavi-Givon N, Zamir O, Fraser D. 2003. Effect of a nonavalent conjugate vaccine on carriage of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in day-care centers. *Pediatr Infect Dis*; 22: 532-9

³⁷ DI FABIO JL, Castañeda E, Agudelo CI, de la Hoz F, Hortal M, et al and the PAHO Sireva – Vigía Study. Group. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group.1993-1999. *Pediatr Infect Dis J* 2001; 20:959-67

Por tal motivo se han propuesto metodologías usando técnicas moleculares para “la identificación de varios serotipo de *S. pneumoniae*, que incluyen el análisis de los perfiles de restricción del genes *cpsA-cpsB*, la citometría de flujo con anticuerpos específicos para diferentes serotipos, la secuenciación de los genes *cpsA-cpsB*”³⁸ y distintas PCR múltiple basadas en una fracción de los serotipos de *S. pneumoniae* que causan enfermedad pediátrica e invasora y son frecuentemente aislados de la nasofaringe, estas técnicas de PCR han demostrado que la amplificación y detección de secuencias específicas del loci capsular de *S. pneumoniae* pueden predecir verazmente el serotipo y detectar diferentes serotipos en una única muestra³⁹.

5.3 RESPUESTA DEL HUÉSPED

Aunque la respuesta inmune contra los varios componentes del neumococo es diferente, tradicionalmente a los polisacáridos capsulares se les ha considerado antígenos timo independientes del tipo 2; esto significa que estos antígenos no son presentados en el contexto del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) y también que la ayuda requerida por parte de las células T para la producción de anticuerpos es mínima. “Estudios en animales han desafiado este concepto mostrando que la expresión del CD40L en los linfocitos T CD4+ es esencial para la síntesis de IgM e IgG contra los polisacáridos”⁴⁰. La expresión de CD40L y la síntesis de IL-4 determinadas por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en células mononucleares de sangre periférica se incrementó luego de la vacunación con la vacuna 23-valente. Al parecer, la presentación de estos polisacáridos por moléculas CD1 “es posible y se ha visto que células dendríticas estimuladas con la bacteria completa pueden promover la síntesis de ciertos isotipos de IgG contra los polisacáridos cuando son transferidas a otros ratones”⁴¹. Se conoce que los anticuerpos IgG contra los polisacáridos confieren protección contra infecciones invasoras por el neumococo. Anticuerpos IgG1 e IgG2 confieren protección contra serotipos específicos del neumococo opsonizando el microorganismo y facilitando la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos⁴².

³⁸ KONG F, Wang W, Tao J, Wang L, Wang Q, Sabananthan A, Gilbert G. 2005. A molecular-capsular-type prediction system for 90 *Streptococcus pneumoniae* serotypes using partial *cpsA-cpsB* sequencing and *wzy-* or *wzx-*specific. *J Med Microbiol*; 54: 351–6

³⁹ PAI R, Gertz RE, Beall B. 2006. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microb*;44:124-31.

⁴⁰ JEURISSEN A, Wuyts A, Kasran A, Ramdien-Murli S, Boon L, et al. 2002. Essential role for CD40 ligand interactions in T lymphocyte-mediated modulation of the murine immune response to pneumococcal capsular polysaccharides. *J Immunol*;168:2773-81.

⁴¹ COLINO J, Shen Y, Snapper C. 2002. Dendritic cells pulsed with intact *Streptococcus pneumoniae* elicit both protein- and polysaccharide-specific immunoglobulin isotype responses in vivo through distinct mechanisms. *J Exp Med*;195:1-13.

⁴² GORDON S, Irving G, Lawson R, Lee M, Read R. 2000. Intracellular trafficking and killing of *Streptococcus pneumoniae* by human alveolar macrophages are influenced by opsonins. *Infect Immun*;68:2286-93.

La pared celular del *S. pneumoniae* consta de peptidoglicano y de ácido teicoico. El peptidoglicano lo conforman cadenas largas alternantes de ácido N-acetil-murámico y de N-acetilglucosamina. El polisacárido C consta de dos partes, el ácido teicoico, el cual es una fosforilcolina con polímeros de bajo peso molecular como N-acetil-glucosamina unido a residuos de ribitol fosfato.

5.4 RESPUESTA NEONATAL

Las infecciones neonatales por *Streptococcus pneumoniae* (SPIN en inglés), son relativamente eventos inusuales (1-11% de las sepsis neonatales), pero están asociados con morbilidad y mortalidad sustancial. Reportes previos sugieren que las infecciones neonatales invasivas por *Streptococcus pneumoniae* están asociadas con ruptura prematura de membrana, colonización materna, parto prematuro, neumonía de aparición temprana (<72horas), con una mortalidad del 50%.

El *Streptococcus Pneumoniae* es un anaerobio gran positivo facultativo que causa a menudo neumonía, otitis, meningitis y septicemia. El *Streptococcus Pneumoniae* se estima que causa 1000.000 de muertes infantiles a nivel mundial cada año. Aunque los avances en terapias medicamentosas y vacunas han traído una significativa reducción de la incidencia de enfermedades neumocócicas, el *Streptococcus Pneumoniae* continúa siendo una amenaza para la población en alto riesgo. La vacuna polisacárida 23 valente está siendo usada en la población pediátrica. Esta tiene los serotipos capsulares más comunes asociados con enfermedad neumocócica. Desafortunadamente la vacuna es muy cara, sobretodo en países en vía de desarrollo, donde ocurren frecuentemente las enfermedades neumocócicas.

De mayor preocupación, sin embargo, es la alta incidencia de colonización y enfermedad causadas por serotipos no vacunales. Esto se ha observado en la población nativa de Alaska con la vacuna 7- Valente, lo cual mostró una disminución de la efectividad en la vacunación⁴³. Adicionalmente a esta preocupación, está en el efecto de la reducción de la colonización nasofaríngea del *Streptococcus Pneumoniae* que puede afectar la colonización de otros patógenos en la nasofaringe. Se demostró que la colonización con *Staphylococcus Aureus* de niños sanos es inversamente correlacionada con la colonización de

⁴³ SINGLETON, R. J., T. W. Hennessy, L. R. Bulkow, L. L. Hammitt, T. Zulz, D. A. Hurlburt, J. C. Butler, K. Rudolph, and A. Parkinson. 2007. Invasive pneumococcal disease caused by nonvaccine serotypes among Alaska native children with high levels of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine coverage. JAMA 297:1784–1792.

serotipos vacunales del *Streptococcus Pneumoniae*⁴⁴. Esta correlación negativa no se evidenció con los serotipos no vacunales.

La proteína A de unión a la colina neumocócica (PcpA)⁴⁵ es un potencial candidato vacunal poco probable de obtener protección contra la colonización. La PcpA se transcribe como un 2,3kb monocistrónico de transcripción que codifica una proteína putativa de 79KDa que contiene un dominio de unión a colina C-terminal.

Esta proteína es distinta, no obstante, de un grupo similar de proteínas de unión a colina como PspC y CbpA. La PcpA contiene varias repeticiones ricas en leucina (LRRs) en su porción N-terminal. La proteína está bajo el control de reguladores dependientes de manganeso *psaR*. Análisis slot-blot de RNA han revelado que in vitro la concentración de manganeso de 50 μ M resultando en una represión de la *pcpA* y una concentración de 0,1 μ M o inferior resulta en una expresión total de la *pcpA*. PcpA mutantes fueron identificadas en modelos murinos con marcada disminución de la virulencia de neumonía y sepsis.

Las LRRs están presentes en más de 2000 proteínas de virus, bacterias, archae y eucariotas. Se ha demostrado que estas proteínas participan en muchas funciones biológicas que incluyen respuesta inmune, apoptosis, adhesión celular, transducción de la señal, reparo de DNA, transcripción y recombinación de DNA, entre otras.

Aunque otros antígenos han demostrado proporcionar protección contra neumonía y sepsis, la *pcpA* es el que mayor protección confiere aunque no confiere protección contra la colonización nasofaríngea. Esto se demuestra en otros estudios con el PdB, un toxoide genético de pneumolisina que al igual que la *pcpA*, no confiere protección contra la colonización.

Hay estudios⁴⁶ que evidencian que la transferencia materno-fetal de los anticuerpos antineumococos y anti-*haemophilus Influenzae* está alterada en bebés prematuros. Los niveles específicos de IgG fueron también más bajos en niños pretérminos y en niños con bajo peso al nacer que en niños a término. Esta observación es realizada en Gambia y otras regiones hiperendémicas de malaria donde hay una alta tasa de prematuros y niños con bajo peso al nacer.

⁴⁴ G. RAHAV, and E. Rubinstein. 2004. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in children. JAMA 292:716– 720.

⁴⁵ GLOVER, David T., Hollingshead, Susan K. et al. *Streptococcus pneumoniae* Surface Protein PcpA Elicits Protection against Lung Infection and Fatal Sepsis. INFECTION AND IMMUNITY, June 2008, p. 2767–2776

⁴⁶ DE MORAES-PINTO MI, Verhoeff C, Milligan P, et al. Placental antibody transfer: Influence of maternal HIV infection and placental malaria. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1998;79(3):F202–205.

La incapacidad de la transmisión transplacentaria de anticuerpos en este grupo poblacional es atribuida principalmente a la inmadurez del receptor Fc placentario en estadios tempranos de la gestación. Se ha demostrado que el Fc γ II, el único receptor expresado en las células endoteliales fetales, juega un papel importante en la transferencia materno-fetal de los anticuerpos, pero la expresión de este receptor es dependiente de la edad gestacional y parece ser expresado principalmente en el tercer trimestre del embarazo⁴⁷. La expresión reducida o la ausencia de este receptor puede resultar en una transferencia reducida de IgG en niños pretérminos y con bajo peso al nacer. Aunque no se investigó en este estudio⁴⁸, las condiciones como la malaria y la infección por VIH contribuyen no solo al bajo peso al nacer, sino también a alteraciones en la transferencia materna de anticuerpos de manera directa.

La vacuna conjugada *H. influenzae* ha sido incorporada dentro del programa amplio de inmunización en países como Gambia y se están haciendo esfuerzos por incluir la vacuna antimeumocócica. Ambas vacunas se administran en el periodo postnatal. Pero la inhabilidad placentaria para transportar los anticuerpos eficientemente desde las madres a sus hijos prematuros y el incremento marcado de la incidencia de las enfermedades neumocócicas generan preocupación en la opción de probar la inmunogenicidad y eficacia de estas vacunas conjugadas después del período del neonatal en todos los bebés prematuros.

5.5 INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS EN MENORES DE 5 AÑOS

Desde hace muchos años, las infecciones respiratorias agudas ocasionan graves problemas en la salud de los niños menores de 5 años en todo el mundo. Se revisaron los estudios comunitarios realizados para estimar la incidencia de la neumonía infantil o de las infecciones respiratorias agudas bajas (IRAB) en niños menores de 5 años, tanto de países desarrollados como en vías de desarrollo. A la vez, se informa de la incidencia y la historia natural de la neumonía observada en niños menores de 35 meses de edad, en un estudio sobre la epidemiología de las enfermedades respiratorias agudas realizado en una comunidad peri-urbana de Lima, Perú.

Se revisó 20 estudios comunitarios registrados en la literatura. De ellos, ocho se realizaron en América, tres en África, seis en Asia y tres en Oceanía. La incidencia de infecciones respiratorias agudas en general, en aquellos estudios en los que se documentó, varió entre cuatro a siete episodios por niño por año, siendo similar a la reportada para países desarrollados; un sólo estudio realizado en Bangkok,

⁴⁷ Ibid, p. 204.

⁴⁸ BROWN J. Okoko, Lalanga H. Wesumperum, et al. Materno-foetal transfer of *H. influenzae* and pneumococcal antibodies is influenced by prematurity and low birth weight: implications for conjugate vaccine trials. *Vaccine* 20 (2002) 647–650

Tailandia dio cuenta de 11,2 episodios por niño por año. No se evidenciaron diferencias marcadas por regiones.

La incidencia en general de neumonía o IRAB varió entre 0,06 y 2,96 episodios por niño por año. Esta gran variabilidad se relaciona a las diferentes definiciones de neumonía o IRAB utilizadas en los estudios y a los diferentes métodos epidemiológicos, como se comentó anteriormente.

El único estudio con vigilancia pasiva realizado en Cali, Colombia, documentó una de las incidencias más bajas de neumonía definida clínicamente con la ayuda de radiología: 0,07 a 0,08 episodios por niño por año en niños menores de 2 años y 0,05 episodios en niños de 3 a 4 años. Cuatro estudios realizados en América Latina utilizaron una definición clínica de neumonía, con o sin la ayuda de la radiología, dentro de una vigilancia activa de casos a nivel domiciliario.

En el estudio pionero realizado en Santa María Cauque, en Guatemala, se documentó una incidencia de 0,53 episodios por niño por año en niños menores de 3 años; en otro estudio realizado en San José de Costa Rica, la incidencia fue de 0,037 episodios por niño por año en niños menores de 5 años; en Fortaleza, Brasil, la incidencia fue de 0,19 episodios por niño por año en niños menores de 5 años de edad, y finalmente en Lima, Perú fue de 0,33 episodios por niño por año en niños menores de 1 año de edad. En un estudio realizado en Basse, Gambia, se informó de una incidencia de neumonía radiológica de 0,165 episodios por niño por año en niños menores de 5 años, los cuales fueron detectados en casos referidos por trabajadores de campo a los centros de salud por presentar signos sugestivos de neumonía.

Con el propósito de contribuir al estudio epidemiológico de las enfermedades respiratorias agudas, se desarrolló un estudio prospectivo en la comunidad de Canto Grande, una área densamente poblada y de bajas condiciones socioeconómicas en el sector noreste de la ciudad de Lima, Perú. Esta comunidad se caracteriza por un clima húmedo (humedad promedio de 79%, con un rango de 55 a 95%), en donde no llueve, y cuya temperatura promedio es de 25° C (con un rango de 11 a 33° C).

La casas en su mayoría son de esteras o de ladrillos, con suelo de tierra que se mantiene húmedo alrededor de la casa la mayoría del tiempo debido a que los habitantes se deshacen del agua arrojándola al suelo después de su uso. El agua la suministran camiones cisterna y se almacena en estanques o cilindros domiciliarios. La electricidad existe en la mayoría de viviendas, pero prácticamente todas utilizaban cocinas de kerosene durante el estudio.

La prevalencia de fiebre informada por la madre también fue significativamente mayor en las neumonías clínicas radiológicas, donde después de iniciar un

incremento alrededor de 10 días antes del día 0, alcanza un valor de 64% en el día 0; el valor máximo fue de 53% en las neumonías clínicas y de 35% en las radiológicas, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. La prevalencia de fiebre en los controles comunitarios fue de 3%.

Es interesante ver cómo en las neumonías clínicas radiológicas y en las clínicas, la prevalencia de fiebre cae abruptamente después del día 0, alcanzando un nivel similar al de los controles comunitarios para el día tres. Esta caída en la prevalencia solo se observó con la fiebre y no con ningún otro de los síntomas o signos respiratorios reportados, indicando probablemente una respuesta a la terapia antibiótica que se inició en todos los casos diagnosticados como neumonía.

Una primera impresión es que las neumonías clínicas con confirmación radiológica son las más severas; pero las neumonías clínicas sin una radiografía positiva tienen un comportamiento muy similar a las neumonías con confirmación radiológica, incluso en su respuesta a la terapia con antibióticos evidenciada por la caída de la fiebre⁴⁹, lo cual sugiere que se trata en su gran mayoría de procesos infecciosos similares. Varios mecanismos podrían explicar esto.

Es sabido que muchos niños con neumonía no tienen, inicialmente, una radiografía positiva, y ésta aparece después de unos días o después que el niño ha sido hidratado adecuadamente.

Las autopsias en niños con confirmación anatomopatológica de la presencia de neumonía y que tuvieron radiografías normales inmediatamente antes de su muerte, confirman estas observaciones. Por otro lado, las neumonías radiológicas que el pediatra no diagnosticó como tales fueron las menos severas en este estudio, explicando por qué no se detectaron clínicamente. Todo esto sugiere que la radiografía no es necesariamente el “estándar de oro” para el diagnóstico de neumonía, que un buen diagnóstico clínico es importante y que en estudios epidemiológicos, la utilización de un criterio clínico para la detección de neumonía es suficiente, si bien la radiología puede ser útil primariamente como medida de control de calidad⁵⁰.

⁴⁹ WALKER D, Fox-Rushby JA. Economic evaluation of communicable disease interventions in developing countries: a critical review of the published literature. *Health Econ.* 2000;9: 681-98.

⁵⁰ BARTOLOME M, Almirall J, Morera J, Pera G, Ortun V, Bassa J, et al. A population based study of the cost of care for community-acquired pneumonia. *Eur Respir J.* 2004;23(4): 610-6.

5.6 INMUNIZACIÓN

Se han aprobado hasta el momento dos tipos de vacunas, con el fin de disminuir la incidencia de la enfermedad neumocócica, la primera consiste en la vacuna que posee los 23 polisacáridos predominantes, vacuna de 23 serotipos o 23-valente⁵¹.

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 pretérmino⁵²,

La segunda vacuna consiste en la vacuna heptavalente conjugada, la cual previa unión de cada uno de los polisacáridos a una proteína portadora como el toxoide tetánico (TT), torna el polisacárido más dependiente de la respuesta celular T y por consiguiente puede ser administrada en niños menores de un año de edad. De acuerdo con un meta-análisis, la efectividad en la reducción de la enfermedad invasora por los serotipos incluidos en la vacuna es del 88% (intervalo de confianza del 73% al 94%) y de la enfermedad causada por cualquier serotipo del 66% (intervalo de confianza del 46 al 79%)⁵³.

Hasta el momento se tienen siete serotipos asociados al TT, lo cual es una limitación en el número de serotipos administrados. Sin embargo, es importante mencionar que en la vacuna heptavalente están incluidos los serotipos asociados con la resistencia a la penicilina, actualmente ya se están haciendo ensayos con una vacuna conjugada de 9 serotipos⁵⁴. Por otro lado, la primera dosis de la vacuna “se aplica a los dos meses de edad excluyéndose a la población menor de esa edad que puede dar lugar al 20-30% de la enfermedad invasora neumocócica en el primer año de vida”⁵⁵.

Actualmente se están buscando estrategias para vacunar a las madres en el tercer trimestre del embarazo y así que éstas confieran los anticuerpos transplacentarios a sus hijos para prevenir enfermedades neumocócicas.

⁵¹ CDC and Prevention. 2000. Prevention of pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). *Morb Mortal Wkly Rep*; 49:1-35

⁵² COSTA-CARVALHO B, *Op Cit.*, p. 653

⁵³ LUCERO MG, Dulalia V, Parreno, Lim-Quianzon D, Nohynek H, et al. 2004. Pneumococcal conjugate vaccines for preventing vaccine-type invasive pneumococcal disease and pneumonia with consolidation on x-ray in children under two years of age. *Cochrane Database Syst Rev*; 18:CD004977.

⁵⁴ CUTTS FT, Zaman SM, Enwere G, Jaffar S, Levine OS, et al. 2005. Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccine against pneumonia and invasive pneumococcal disease in The Gambia: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*; 365:1139-46.

⁵⁵ WHO Collaborative Study. 1999. *Pediatr Infect Dis J* 18: S1 – S2.

5.7 REACTIVIDAD CRUZADA

La opsonofagocitosis es una correlación de la protección de la inmunidad inducida por la vacuna. De esta manera, la reactividad cruzada altamente relacionada con serotipos como el 15C es relevante en términos de la evaluación de la vacuna induciendo protección cruzada. Yu y cols. Han reportado diferentes niveles de anticuerpos opsonicos con reactividad cruzada para el serotipo 19A dependiendo del tipo de proteína usada para la conjugación del polisacárido 19F.

Sin embargo, todas las vacunas evaluadas promueven títulos opsonicos al serotipo 6A en al menos 50% de los neonatos. Estudios recientes también muestran que la vacuna heptavalente provee protección cruzada contra enfermedades invasivas y otitis media causada por el serotipo 6A. A pesar de sus homologías genóticas (ST199), los serotipos 15B y 15C tienen una clara y medible diferencia antigénica que es demostrada por la diferencia en la actividad de los anticuerpos.

Mostramos aquí que el epítopo funcional primario del polisacárido 15B está ligado a la O-acetilación de los residuos monosacáridos. La eliminación del grupo O-acetil resulta en la pérdida de la actividad funcional del anticuerpo. Esto estuvo lejos de confirmarse por la ausencia de reactividad cruzada de los anticuerpos polisacárido 15C séricos postvacunación, cuyo polisacárido capsular posee un grupo O-acetilado. La falta de un grupo O-acetilado puede contribuir al cambio en la estructura antigénica del polímero capsular, haciéndolo no reactivo con los anticuerpos anti-15B. La O-acetilación ha demostrado ser uno de los parámetros importantes cuando se mide la actividad funcional del anticuerpo en meningococo.

Aunque algunos investigadores han sugerido la conjugación de los polisacáridos pueden resultar potencialmente en la generación de reactividad cruzada, en el caso de los polisacáridos no conjugados no hay una ayuda en la presentación del antígeno del huésped. Por lo tanto, la falta de anticuerpos con reactividad cruzada bajo condiciones no conjugadas podría considerarse en el desarrollo de futuras vacunas, y en el reporte de prevalencia de enfermedad neumocócica en neonatos⁵⁶.

⁵⁶ GOWRISANKAR Rajam, et al. Functional Antibodies to the O-Acetylated Pneumococcal Serotype 15B Capsular Polysaccharide Have Low Cross-Reactivities with Serotype 15C. *clinical and vaccine immunology*, sept. 2007, p. 1223–1227 vol. 14, no. 9 1556-6811/07

6. PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

Los anticuerpos sero-específicos que reaccionan con el polisacárido capsular del neumococo cobran importancia en la protección contra enfermedad neumocócica. La respuesta de los anticuerpos a los polisacáridos capsulares, antígenos timo independientes, es predominantemente IgM e IgG2 en adultos jóvenes sanos. Hay mucho debate acerca de los valores protectivos de los anticuerpos IgG2, por falta de evidencia acerca de su capacidad para activar la vía clásica del complemento y para interactuar con los receptores Fcγ fagocíticos. En adición, hay conflictos acerca de la contribución de los anticuerpos específicos a las diferentes subclases de IgG, en relación a la opsonización y fagocitosis del neumococo.

Los títulos de anticuerpos antineumococo transplacentarios de neonatos producto de madres vacunadas con la neumoco 23 sobrepasan el nivel de protección (1,3µg/ml) que los anticuerpos transplacentarios de neonatos productos de madres del grupo control.

7. DISEÑO METODOLOGICO

7.1 TIPO DE ESTUDIO

Este es un ensayo clínico doble ciego aleatorizado en los que se seleccionaron 140 mujeres en el tercer trimestre de embarazo. Estas mujeres se consideraron como gestantes de bajo riesgo, es decir, no haber presentado complicaciones durante su gestación como ser mujeres aÑosas, placenta previa, presentación podálica, pre-eclampsia o eclampsia, ruptura prematura de membranas, que tengan los paraclínicos normales que se hacen a toda embarazada (VIH, serología, pruebas de TORCH negativos), estas mujeres se dividieron aleatoriamente de acuerdo con una tabla de números aleatorios en dos grupos de 80 cada uno denominados A y B.

7.2 POBLACION, MUESTRA, MUESTREO

El tamaño de la muestra fue de 80 embarazadas por grupo con un poder del 95% y un error alfa de 0.05, asumiendo que la proporción de enfermedad neumocócica en los niños hijos de madres vacunadas sea de 0.1, mientras que en los hijos de madres no vacunadas sea de 0.3 para una diferencia de proporciones de 0.2. En caso de pérdida de 20 niños en cada grupo el poder disminuirá al 90% lo cual aún es significativo estadísticamente.⁵⁷

7.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 1. Operacionalización de variables

VARIABLE	SUB-VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADORES O CATEGORÍAS	NIVEL DE MEDICIÓN	INDICE
SOCIODEMOGRÁFICAS	Edad	Tiempo de existencia desde el nacimiento	Meses transcurridos desde el nacimiento	Razón	
	Peso	Cantidad de masa que tiene la		Razón	Gramos

⁵⁷ SMITH PG, Morrow R. 1991. Methods for field trials of interventions against tropical diseases. Oxford University Press. Oxford, UK. P57

		población estudio			
	Talla	Estatura de la población estudio		Razón	Centímetros
	Sexo	Condición orgánica que distingue al macho y la hembra de la población estudio	Masculino y/o Femenino	Nominal	
PROCEDIMIENTOS Y/O ANÁLISIS PARACLÍNICOS	Títulos de anticuerpos-serotipo específicos	Anticuerpos transplacentarios IgG contra los serotipos 1, 3, 4, 5, 14, 23, 26, 56 y 68 de <i>S. Pneumoniae</i>	Concentración sérica de anticuerpos serotipo-específicos	Razón	µg/ml
	Títulos de IgG	Inmunoglobulinas tipo IgG total e IgG2 en los niños	Concentración de IgG total e IgG2 al 1,3 y 6 mes de vida	Razón	mg/dl
	Títulos de IgM	Inmunoglobulinas IgM en los niños	Concentración de IgM al 1, 3 y 6 mes de vida	Razón	mg/dl
	Títulos de IgA	Inmunoglobulinas IgA en los niños	Concentración de IgA al 1, 3 y 6 mes de vida	Razón	mg/dl
	Títulos de IgE	Inmunoglobulinas IgE en los niños	Concentración de IgE al 1, 3 y 6 mes de vida	Razón	mg/dl
	Títulos de complemento	Títulos de C3 y C4 en los niños	Concentración de C3 y C4 al 1, 3 y 6 mes de vida	Razón	mg/dl

7.4 TÉCNICAS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

En este proyecto, se empleó una técnica de tipo observacional (Observación directa), al realizar seguimiento a la población objeto una al nacimiento, luego a los 3 y a los 6 meses de edad. Se realizó mediante visitas al Hospital el Rosario de Campoalegre, por parte del grupo de trabajo del semillero y personal del hospital voluntaria a ayudar en el proyecto, que consta de: jefe de investigación del proyecto, jefe de investigación del semillero, estudiantes participantes e integrantes del proyecto y semillero de investigación, microbióloga, pediatra, y

enfermera, las visitas se realizaron los días sábados de 8 am a 12 m, se acordaron las fechas de acuerdo al personal asistente y disposición del material de trabajo, se realizaron cada 1 a 2 meses, durante el periodo acordado para la total recolección de los datos, los cuales se registraron en un formato diseñado para el estudio (anexo A), y se recogieron las muestras de hisopados nasofaríngeos y muestra de sangre, a cada niño en las fechas correspondientes, además se le brindó información a la madre acerca de los avances y objetivos que se tienen con su buen cumplimiento y se le aclararon dudas, si las tenía.

Posteriormente se titularon los diferentes anticuerpos antineumococo de tipo IgG de las diferentes muestras séricas y de hisopados recolectados previamente mediante el seguimiento descrito anteriormente.

En el momento de usarlas las placas serán lavadas 3 veces con PBS-Tween. El suero estándar que se utiliza como referencia para determinar la concentración de anticuerpos específicos anti-neumocócicos es el FDA 89-SF que se obtendrá a través de Carl R. Frash (CBER; US Food and Drug administration, Rockville, Md). La concentración de IgG específica para los polisacáridos en el suero estándar ha sido ya establecida⁵⁸. Las muestras de suero obtenidas y las del suero de referencia serán incubadas con el polisacárido C (Statens SerumInstitute, Dinamarca) para remover anticuerpos contaminantes⁵⁹ antes de adicionarlos a las placas. Las muestras de los niños se diluirán 1/50 y se harán diluciones seriadas hasta 1/400, el suero 89-SF será diluido 1/200 y se harán diluciones seriadas hasta 1/12.800; 50 µl de cada dilución del estándar y de las muestras se adicionará a las placas y se incubarán durante 30 minutos a 37 °C. Luego de 3 lavados con PBS-Tween se agregará un conjugado HRP- IgG de ratón anti- IgG humana (diluido 1/1000) (ICN Biochemical, USA) y se incubará 1 hora a 25 °C. Finalmente, 50 µl de tetrametilbencidina (Sigma-Aldrich, USA) se usará como sustrato, diluido en buffer citrato pH 4,5 (ácido cítrico 0,1M y Na₂PO₄ 0,1M diluido en 2 volúmenes de ácido más 3 volúmenes de base) más 2 ml de H₂O₂ para activar el sustrato inmediatamente antes del uso. La reacción se parará con H₂SO₄ y se leerá a 450 nm usando un filtro de referencia de 690 nm en un lector de Elisa (ELX 800, Bio-tek, USA). La concentración de los anticuerpos IgG específicos mayores a 1,2 µg/ml se considerarán como efectivas contra el serotipo analizado⁶⁰

⁵⁸ QUATEERT SA, Kirch CS, Wiedl LJ, et al. 1995. Assignment of weight-based antibody units to a human antipneumococcal standard reference serum, lot 89-S. Clin Diag Lab Immunol 2: 590 -597.

⁵⁹ MUSHER DM, Jhonson B, Watson D. 1990. Quantitative relationship between anticapsular antibody measured by enzyme-linked immunosorbent assay or radioimmunoassay and protection of mice against challenge with *Streptococcus pneumoniae* serotype 4. Infect Immun;58:3871-6.

⁶⁰ SORENSEN RU, Leiva LE, Javier FC 3rd, Sacerdote DM, Bradford N, Butler B, Giangrosso PA, Moore C. Influence of age on the response to *Streptococcus pneumoniae* vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. J Allergy Clin Immunol 1998(b); 102: 215 - 221

7.5 PROCEDIMIENTOS

Los títulos de IgG específicos anti-neumocócicos se determinaron usando la técnica de ELISA descrita por Koskela de acuerdo con las modificaciones introducidas por el CDC. Brevemente, placas de Elisa (Nunc Maxisorb, USA) fueron cubiertas con 100 µl de diferentes polisacáridos neumocócicos comerciales: 1, 4, 5, 6B, 9V, 14, 18F, 19 y 23F (ATCC, Rockville, MD, USA) diluídos en 0,01 M Na₂HPO₄/KH₂PO₄ pH 7,2, por 5 horas a 37°C y luego guardadas a 4°C hasta su uso.

Los datos demográficos, al igual que los datos derivados de los controles prenatales, se ordenaron en una base de datos creada en el Epi-Info 6.01 para tal fin. A las madres del Grupo A, previo consentimiento informado (Anexos B y C), se les colocó la vacuna 23-valente (Pneumo23, Aventis) intramuscular, la cual contiene 25µg de cada uno de los siguientes serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F. A las madres del Grupo B se les aplicó la vacuna contra el *Haemophilus Influenzae*, por lo que constituyeron el grupo control.

7.6 INSTRUMENTOS

Se realizó un formato donde se registraron las características sociodemográficas de la población estudio junto con las actividades e intervenciones organizadas de manera cronológica, tales como los hallazgos al examen físicos positivos durante las visitas que se realizaron en el Hospital el Rosario de Campoalegre, las muestras que se tomaron y el registro de las medidas antropométricas de la población estudio (anexo A).

7.7 PLAN DE TABULACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

A los niños, fruto de esos embarazos, se les realizó seguimiento en el control neonatal hasta el día 28, en la consulta externa de la Hospital del Rosario E.S.E en el Municipio de Campoalegre. También se determinó en ellos, el nivel de anticuerpos anti-neumococo en los neonatos, el nivel de anticuerpos anti-neumococo y la colonización nasofaríngea por el neumococo en los primeros seis meses de vida. Todo esto de acuerdo a nuestro cronograma de actividades (Anexo D).

Todos los datos recolectados en las visitas al Hospital de Campoalegre se tabularon en Epi-info 3.51 y los títulos de anticuerpos obtenidos por ELISA se analizaron mediante medidas no paramétricas (Mann Whitney Test) con un intervalo de confianza del 95% utilizando el programa Graph Prism versión 3.01 para Windows. De esta manera se correlacionaron los títulos de anticuerpos

serotipo específicos de hijos de madres inmunizadas con hijos de madres no inmunizadas (grupo control).

7.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Debido a que la vacuna no se encuentra autorizada para su aplicación durante el embarazo se advertirá a las madres de la posibilidad de efectos adversos, que hasta ahora en los estudios realizados se describen como localizados como induración local en el sitio de la aplicación y dolor en el sitio de la palpación. Sin embargo, para verificar que la vacuna no induce ninguna alteración del embarazo o el parto, a estas madres se les verificará el tiempo de parto y alumbramiento, sangrado, presencia de complicaciones durante el parto que pudieran indicar efecto secundario de la vacuna.

En el diseño del proyecto no se intervendrá en el estado de salud del niño, se requerirá de la toma de sangre total (3 ml), procedimientos que sólo causan una ligera molestia local y que serán realizados por un médico. Por lo que se explicará de una manera clara a las madres y los representantes legales del niño que ingresen al estudio sobre los fines del proyecto y sus características, aclarando que ellas pueden retirarse o retirar al niño del estudio en cualquier momento (Anexo B). Igualmente, se dará respuesta frente a alguna inquietud que puedan presentar o se aclarará alguna duda acerca de los procedimientos, riesgos u otros asuntos relacionados con la investigación (Anexo C).

En este proyecto se tuvo en cuenta la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia sobre la investigación en los seres humanos, según la cual lo clasifica como un estudio de riesgo mínimo. Según el artículo 67, de la misma Resolución, los microorganismos que se utilizarán en este proyecto se clasifican dentro de los grupos de riesgo II y representan riesgo moderado para el individuo y escaso o limitado para la comunidad.

8. RESULTADOS

8.1 CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

Se les realizó seguimiento a 141 niños en total. Solamente 133 niños tienen reporte de seguimiento al mes, a los 3 meses y a los 6 meses, como pueden ver en la siguiente tabla:

Tabla 2. Características socio demográficas de la población

Variable	casos N=85	controles N=48
	n %	n %
Sexo		
Masculino	36(25,57%)	28(19,85%)
Femenino	49(34,75%)	20(14,18%)
Peso		
	Media (Rango)	Media (Rango)
0-2 meses	3920(2180-6200)	3652,7(2500-5400)
3-5 meses	6312,89(3042-8400)	6407,21(5180-8200)
6 meses ó más	7826,58(5880->10000)	7936,97(6320->10000)
Talla		
0-2 meses	53,57(42-61)	53,06(48-62)
3-5 meses	61,76(53-68)	62,1(56-66)
6 meses ó más	67,97(61-79)	67,92(60-80)
perímetro cefálico		
0-2 meses	35,86(29-41)	35,47(31-39)
3-5 meses	40,18(34-43)	40,26(35-44)
6 meses ó más	43,18(39-47)	43,05(39-47)
perímetro torácico		

0-2 meses	35,67(28-45)	35,8(32-42)
3-5 meses	41,63(33-45)	41,61(34-47)
6 meses ó más	44,7(37-51)	44,64(40-54)

El 60,32% corresponde a los niños vacunados con la vacuna polisacárida Neumo-23, de los cuales el 25,57% corresponden al sexo masculino y el 34,75% femenino. El 39,68% corresponde a los niños vacunados con la vacuna de *Haemophylus Influenzae* (grupo control); de los cuales el 19,85% son del sexo masculino y el 14,18% femenino. Se determinó los valores de peso, talla, perímetro cefálico y perímetro torácico para cada uno de los grupos. El peso promedio para los niños vacunados a los 2 meses, a los 5 meses y 6 meses fue de 3920gr, 6312,89gr y 7826,58gr; mientras que para el grupo control fue de 3652,7gr, 6407,21gr, y 7936,97gr respectivamente. La talla promedio para los niños vacunados a los 2 meses, a los 5 meses y a los 6 meses fue de 53,57cm, 61,76cm y 67,97cm. El grupo control fue de 53,06 cm, 62,1cm y 67,92 cm respectivamente. El perímetro cefálico promedio para los niños vacunados a los 2, a los 5 y a los 6 meses fue de 35,86cm, 40,18 cm y 43,18 cm mientras que para el grupo control fue de 35,47 cm, 40,26 cm y 43,05 cm respectivamente. El perímetro torácico para los niños vacunados a los 2, a los 5 y a los 6 meses fue de 35,67 cm, 41,63 cm y 44,7 cm mientras que en el grupo control fue de 35,8 cm, 41,61 cm y 44,64 cm respectivamente. No se encontró diferencias significativas en estos parámetros entre los dos grupos.

8.2 PERFIL INMUNOLÓGICO

También se tienen muestras de los anticuerpos contra polisacáridos de 61 bebés desde el nacimiento hasta el primer mes de vida, de 72 bebés desde el primer mes hasta los tres meses de vida y de 44 bebés desde los tres meses hasta los 6 meses de vida.

También se tienen muestras del perfil inmunológico:

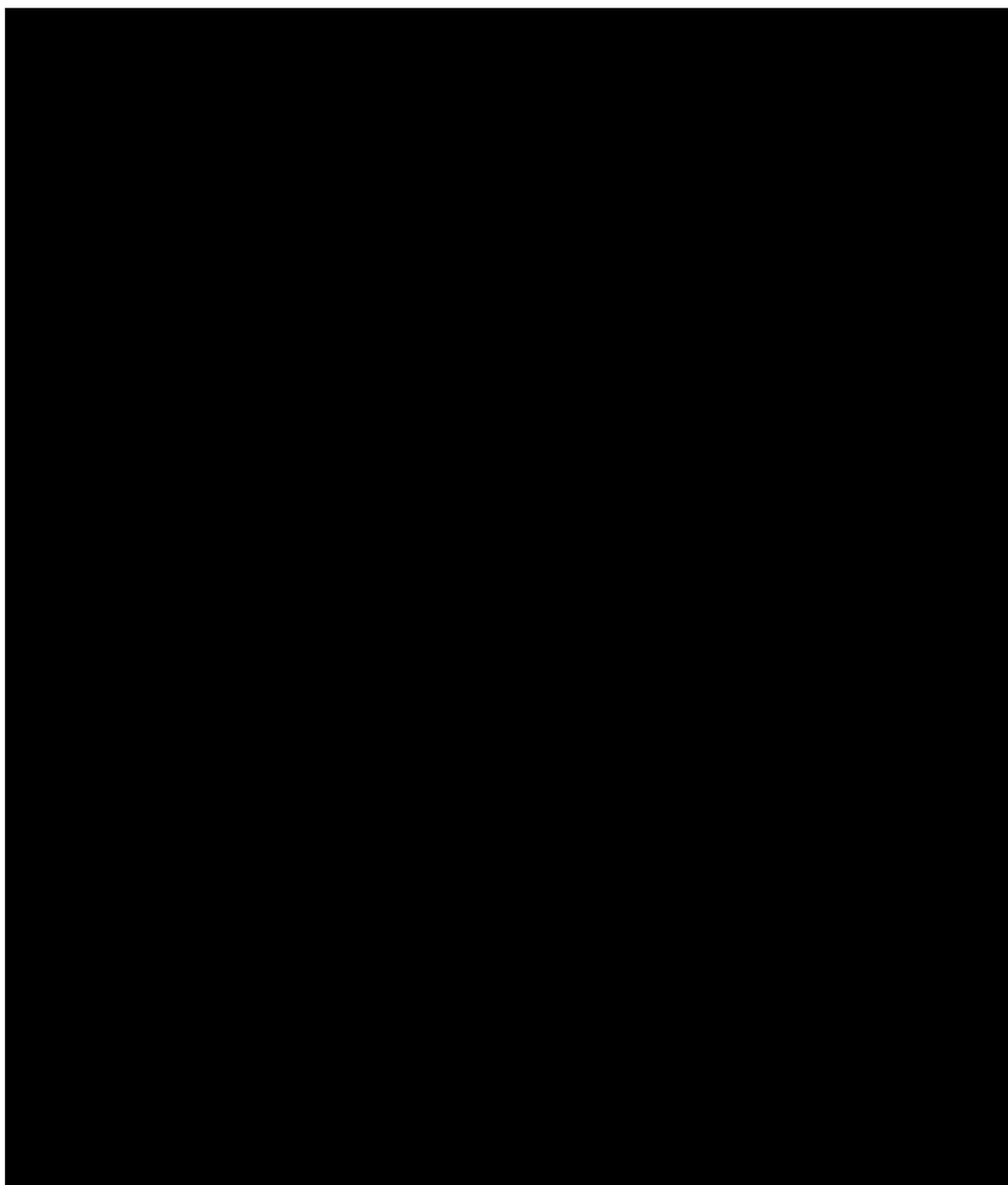
Tabla 3. Cantidad de Muestras tomadas al 1, a los 3 y a los 6 meses de vida.

	IgG	IgA	IgM	IgE	C3	C4	IgG2
1 ^a Muestra	14	14	14	14	14	14	1
2 ^a Muestra	85	85	85	85	85	85	9
3 ^a Muestra	33	33	33	33	33	33	16

Todos estos datos fueron analizados con Graphpad Prism mediante t-test y medidas no paramétricas (Mann-Whitney Test) aceptándose como $p < 0.05$ para que la muestra sea estadísticamente significativa.

Como podemos evidenciar en la figura 1, no se encontraron diferencias significativas con respecto a los diferentes parámetros del perfil inmunológico entre los niños hijos de madres vacunadas con la Neumo-23 y los niños del grupo control.

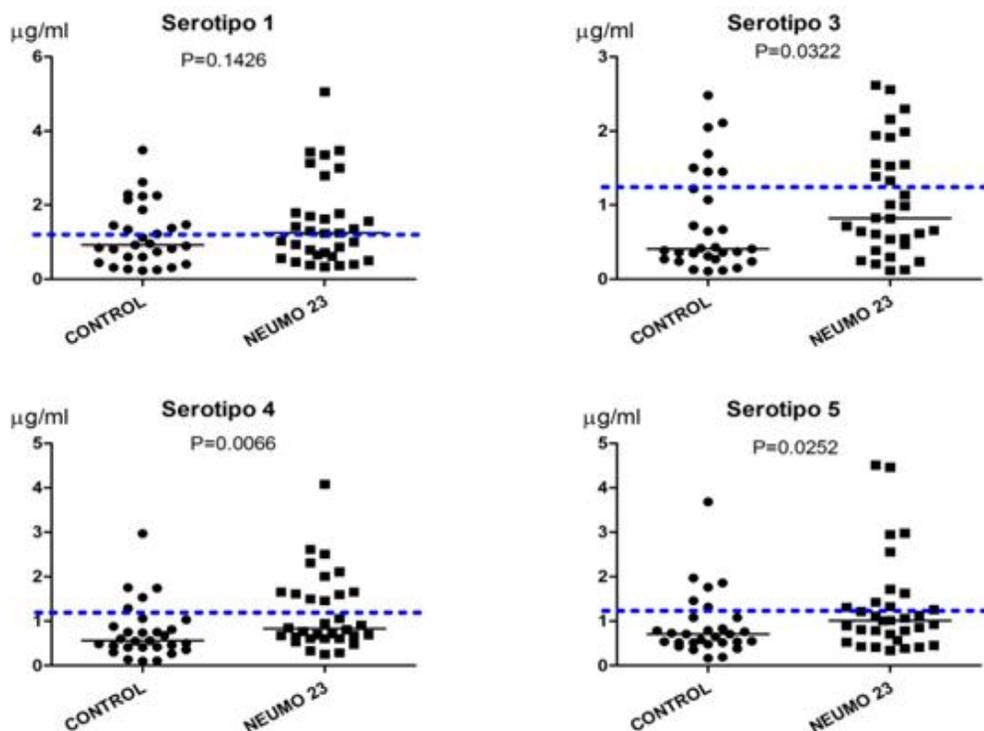
Figura 1. Perfil inmunológico de los niños vacunados y no vacunados.

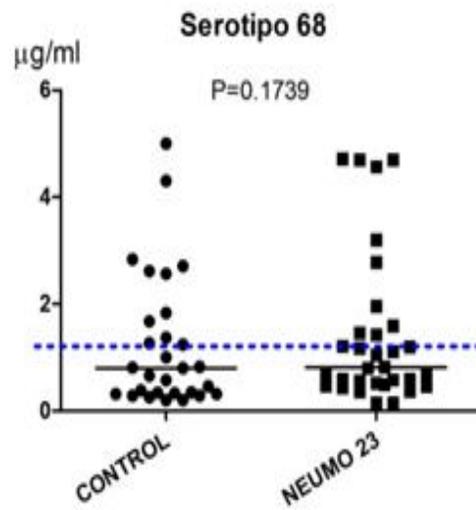
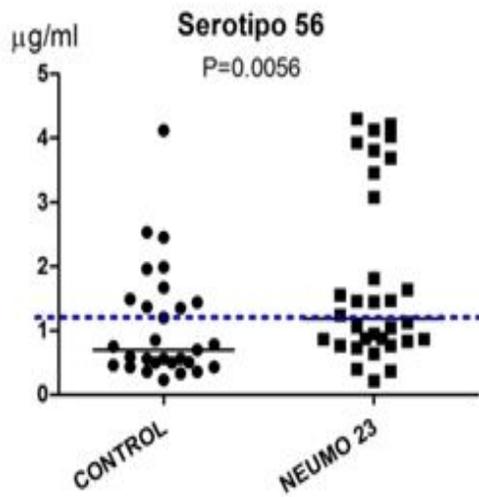
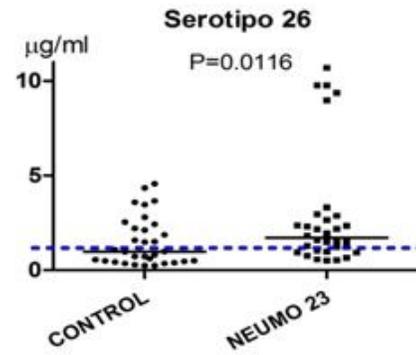
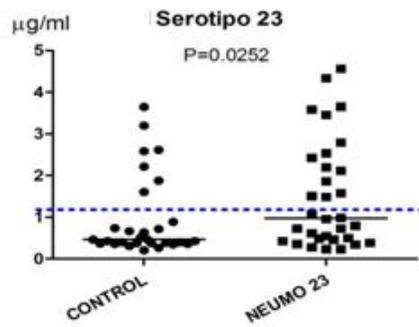
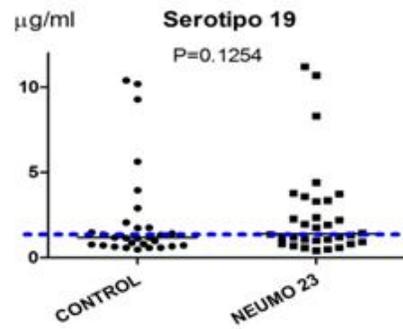
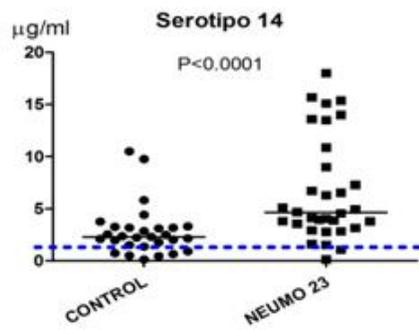


8.3 CONCENTRACIONES DE LOS ANTICUERPOS SEROTIPO-ESPECÍFICOS Y PASO TRANSPLACENTARIO

Se realizó la titulación de los anticuerpos serotipo-específicos para 10 serotipos únicamente (serotipos 1, 3, 4, 5, 14, 19(Danish 19F), 23(Danish 23 F), 26(Danish 6B), 56(Danish 18C), 68(Danish 9V)). Adicionalmente se determinó para cuáles serotipos las concentraciones de anticuerpos estaban por encima del umbral de protección de la vacuna (1,3 µg/ml). Como podemos ver en la figura 2, hay una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos de comparación. Podemos evidenciar que únicamente los anticuerpos para los serotipos 14 y 26 sobrepasaron el límite o umbral de protección de la vacuna en los niños hijos de las madres vacunadas con la Neumo-23 que en el grupo control con una $P < 0.0001$ y $P = 0.0116$ respectivamente. Encontramos que los anticuerpos para los serotipos 1, 3, 4, 5, 19, 23, 56 y 68 no sobrepasaron el límite de protección. Tampoco hubo diferencias significativas para éstos en los 2 grupos.

Figura 2. Concentración de IgG serotipo específicos al 1º mes, grupo estudio vs grupo control; indicando mediana de cada grupo, valor P, y limite de protección de la vacuna 1.3 µg/ml (línea punteada).

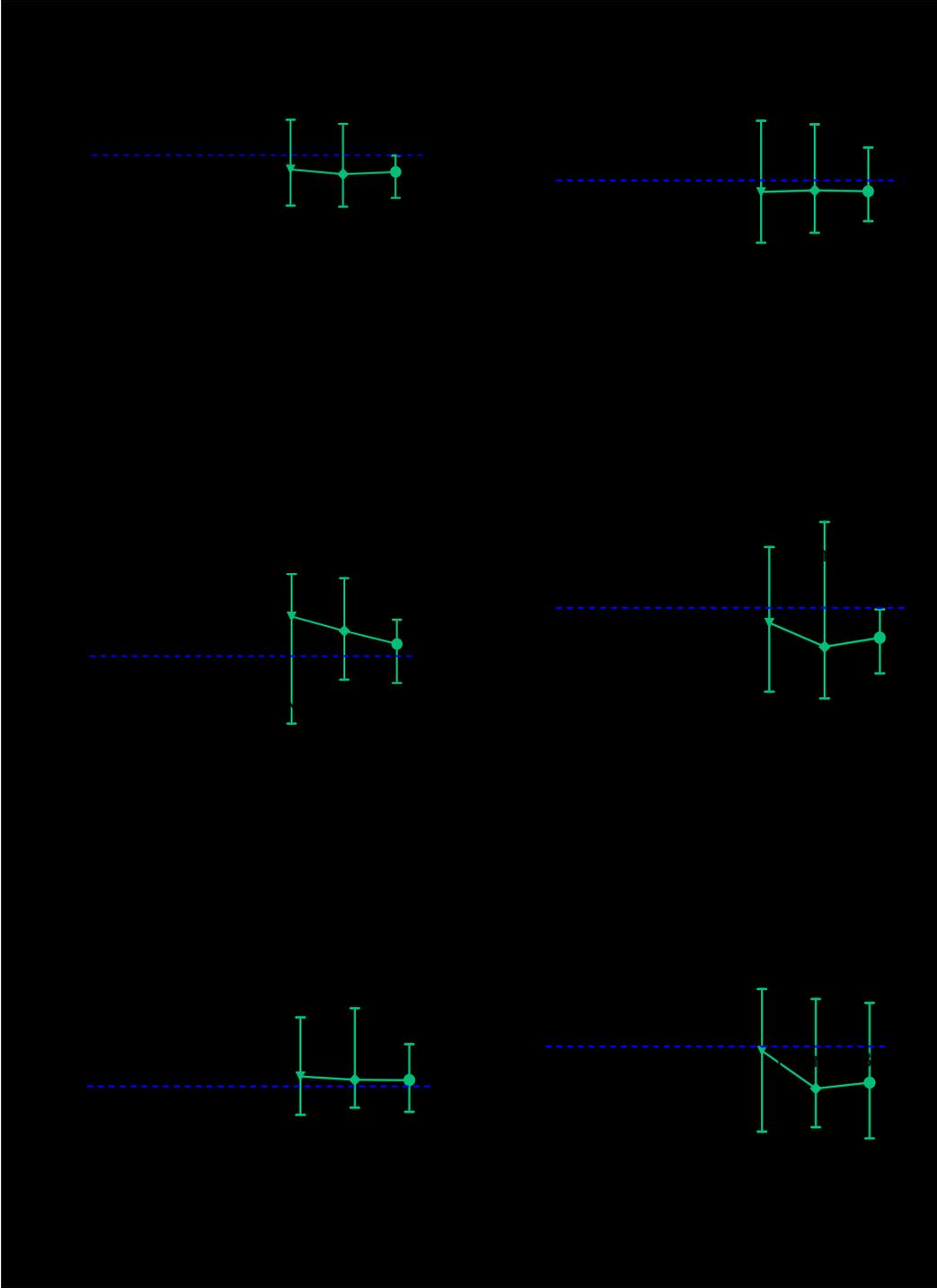




8.4 SEGUIMIENTO HASTA LOS 6 MESES DE VIDA

Se realizó seguimiento a los 2 grupos de comparación al 1, a los 3 y a los 6 meses de vida para los anticuerpos serotipo-específicos de los 6 serotipos que mostraron un evidencia de paso transplacentario (4, 5, 14, 23, 26 y 56). Podemos ver que los anticuerpos serotipo-específicos para los serotipos 14 y 26, que sobrepasaron el límite de protección, disminuyeron pero mantienen sus concentraciones al 3 y 6 mes de vida por encima de éste en los niños hijos de madres vacunadas con la Neumo-23 que en el grupo control. Para los serotipos restantes, las concentraciones tienden a igualarse a medida que transcurre el tiempo, tal como se muestra en la figura 3.

Figura 3. Curva de seguimiento de las concentraciones al 1º, al 3º, y al 6º mes de vida, de los anticuerpos serotipo-especificos; comparando los dos grupos, indicando su mediana, y limite de protección de la vacuna en 1.3 µg/ml (línea punteada)



9. DISCUSIÓN

La inmunización durante el embarazo es una estrategia que tiene la ventaja de una única oportunidad de proveer a los infantes protección de estos patógenos. La eficacia de este acercamiento y los beneficios significativos tanto de la madre como del niño, han sido reiteradamente demostrados mundialmente con el éxito de la inmunización materna con el toxoide tetánico para la prevención del tétanos neonatal⁶¹.

Las vacunas de H. Influenzae tipo b (polisacárido capsular solo, en conjunción con difteria o toxoide tetánico o acoplada covalentemente a una proteína mutante no tóxica de la difteria (CMR197)) también han sido administradas a mujeres durante el embarazo en países industrializados⁶², y son ahora el modelo para el estudio de polisacáridos similares y las vacunas conjugadas en embarazadas.

Varios estudios han demostrado que los anticuerpos IgG naturales adquiridos contra el polisacárido capsular de serotipos comunes del neumococo han sido transferidos transplacentariamente al feto, y que los bajos niveles de anticuerpos maternos están asociados con infección o enfermedad en la infancia temprana. De igual manera lo hemos demostrado con este estudio.

Estudios clínicos⁶³ de inmunización maternal con vacunas polisacáridas neumocócicas en Africa y Asia han resultado en observaciones similares, y en estudios experimentales, una correlación entre las altas concentraciones de anticuerpos sero-específicos de la vacuna al nacimiento y la acelerada respuesta hacia serotipos específicos con la subsecuente inmunización activa, ha sido demostrado.

No se reportó fiebre ni reacción sistémica entre los niños. Tampoco se reportaron efectos colaterales atribuibles a la vacuna en la madre ni en los niños.

En nuestro estudio evidenciamos los mismos resultados con respecto los serotipos 14 y 26(Dansih 6B) respectivamente. Las tasas de transmisión de la IgG total en el grupo control fue igual que en el grupo de los niños hijos de madres vacunadas con la neumo-23. En otros estudios⁶⁴, el paso transplacentario eficiente de los anticuerpos serotipo-específicos fue documentado, con una alta tasa de

⁶¹ WHO. Neonatal Tetanus. Progress toward the global elimination of neonatal tetanus, 1990–1997. WHO website: www.who.int/vaccines-diseases/diseases/NeonatalTetanus.htm, accessed 3 November 2000.

⁶² ENGLUND JA, Glezen WP, Thompson C, et al. *Haemophilus influenzae* type b specific antibody in infants after maternal immunization. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:1122–30.

⁶³ O'DEMPSEY TJD, McArdle TF, Lloyd-Evans N, Baldeh I, Lawrence BE, Secka O, et al. Pneumococcal disease among children in a rural area of West Africa. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:431–7.

⁶⁴ QUIAMBAO, Op Cit., p. 4474

transmisión para IgG1 comparada con IgG2. Las tasas de transmisión de la IgG total para los serotipos 6B, 14 y 19F fue alta. Individualmente, la IgG1 fue más eficientemente transmitida que la IgG2.

Esto podría ser un reflejo de la alta producción de IgG2 en mujeres vacunadas con la vacuna neumocócica. Sin embargo, esto no parece interferir con la eficiencia global de la transmisión transplacentaria de IgG1 e IgG2 total. Altas tasas de transmisión transplacentaria seguidas de inmunización en el embarazo similares han sido observadas en otros antígenos, como en las vacunas polisacáridas del tétanos, y el H. Influenzae tipo b, meningococo y streptococcus del grupo B. estas tasas reflejan el transporte activo de anticuerpos de la madre al feto, como un proceso natural y continuo que ocurre al final de la gestación.

En los dos grupos, las concentraciones de anticuerpos anti-neumococo en los niños al nacimiento fue similar a aquellas en las madres, y las concentraciones de anticuerpos declinaron gradualmente casi un tercio a los 3 meses de edad. Sin embargo, los niños hijos de madres vacunadas con la neumo-23 continuaron mostrando niveles significativamente más altos de anticuerpos que los niños del grupo control a los 3 meses de vida de dos importantes serotipos, el 6B, y el 14.

Altos niveles de anticuerpos funcionales en los primeros 3 meses de vida tienen el potencial de disminuir la incidencia o la severidad de la enfermedad causada por serotipos neumocócicos incluidos en la vacuna. Aunque los niveles de anticuerpos que se correlacionan con la protección no están claramente definidos, la concentración media de anticuerpos alcanzadas en este punto del seguimiento para los serotipos anteriores fue alta. Una alta correlación similar de la actividad opsonica y las concentraciones de IgG fue verificada en otros estudios, al igual que las concentraciones y los títulos opsonicos de IgG para los serotipos estudiados anteriormente en niños hijos de madres vacunadas con la neumo-23 y en niños control.

Altas concentraciones de anticuerpos en respuesta a la inmunización infantil con la vacuna conjugada neumocócica han sido asociadas con decremento en la colonización nasal con *S. Pneumoniae*. Los anticuerpos maternos transmitidos a los niños podrían potencialmente influenciar la colonización temprana del tracto respiratorio superior en los recién nacidos. Futuros estudios son necesarios para evaluar este efecto.

La protección contra el *S. Pneumoniae*, un patógeno significativo en el periodo neonatal, puede ser obtenida a través de la transferencia de los anticuerpos maternos a los niños. La concentración protectora de los anticuerpos transferidos pasivamente no se conoce. Se han usado concentraciones de 0.35µg/ml como el umbral para calcular la proporción de infantes protegidos a los 4 meses de vida. Esta concentración de anticuerpos ha sido fijada como predictiva de protección

contra enfermedad invasiva después de la inmunización de infantes con la vacuna conjugada. La relevancia del uso de esta concentración en estudios entre recién nacidos pasivamente inmunizados puede ser cuestionada. Éstos son inmunológicamente diferentes de otros infantes que han recibido la vacuna conjugada que induce también memoria inmunológica. Igualmente, la inmunidad derivada de la transferencia transplacentaria de anticuerpos maternos no puede ser la misma que la derivada de la inmunización con la vacuna conjugada, luego la misma correlación de protección no aplica. Sin embargo, hasta el presente no existen mejores formas de correlacionar la protección.

La concentración de anticuerpos pasivamente adquiridos disminuirán con la edad del niño. Basados en reportes previos, la velocidad de decremento de los anticuerpos en la infancia, mostraron que la concentración de sangre de cordón de 4,4µg/ml era suficiente para proveer concentraciones de > 0,35µg/ml durante los primeros 4 meses de vida.

La inmunización materna con la vacuna polisacárida neumocócica abarca la cobertura de protección en los primeros meses de vida comparada con la vacuna conjugada, y podría permitir un retraso de la inmunización activa del infante, reduciendo el número de dosis de vacuna conjugada necesarios para la protección. Esto es particularmente relevante en áreas del mundo donde la causa de enfermedad neumocócica en niños abarca mayores serotipos que los prevalentes en Estados Unidos. Estudios posteriores son necesarios para direccionar el impacto de la inmunización materna con vacunas neumocócicas sobre la respuesta del niño a la inmunización activa, la subsecuente colonización del niño y la eficacia última de este método de inmunización.

10. CONCLUSIONES

- De los datos obtenidos podemos concluir que la vacuna no es reactogénica en el recién nacido.
- Solamente se encontró que los anticuerpos para los serotipos 14 y 26 superaron el límite de protección de 1,3 microgramos/mL al mes de vida.
- Se encontró un pequeño porcentaje de paso transplacentario para los serotipos 4, 5, 14, 23, 26 y 56 en los hijos de madres vacunadas con la vacuna 23 valente ($p < 0.03$, Mann-Whitney test) al mes de vida, mientras que a los 3 y 6 meses solo persistieron concentraciones de IgG para los serotipos 14 Y 26 por encima de los límites de protección.
- De los anticuerpos que alcanzaron el límite de protección de la vacuna, a los 3 meses de vida se observó que hay una disminución de las concentraciones en los niños hijos de madres vacunadas con la Neumo-23, pero a los 6 meses tienden a aumentar, lo cual nos indica que los niños tuvieron contacto con el neumococo y comienza a producir sus propios anticuerpos.

No se reportó fiebre ni reacción sistémica entre los niños. Tampoco se reportaron efectos colaterales atribuibles a la vacuna en la madre ni en los niños.

11. RECOMENDACIONES

En estudios posteriores es importante realizar un enfoque más detallado con respecto a los serotipos 14 y 26 puesto que en muchos estudios realizados con respecto a la inmunización materna e inmunización pasiva y paso transplacentario siempre reportan anticuerpos para estos serotipos en concentraciones elevadas.

Es importante resaltar que los anticuerpos serotipo-específicos para los serotipos 14 y 26 mostraron persistencia a lo largo del seguimiento y con niveles superiores al umbral de protección de la vacuna, pero no conocemos qué factores influyen en dicha persistencia de éstos anticuerpos para determinados serotipos neumocócicos. Estudios posteriores deben realizarse para responder estos interrogantes.

No se conocen los mecanismos por los cuales los serotipos 14 y 26 del *S. Pneumoniae* generan títulos altos de anticuerpos con respecto a otros serotipos ni tampoco se conocen con exactitud qué tipo de IgG es la que se presenta. Por esto, es interesante tenerlo en cuenta para futuros estudios.

Puesto que no se pudo tomar muestras de sangre de cordón en nuestro estudio, es imprescindible para futuros estudios realizar comparaciones de las concentraciones de anticuerpos serotipo-específicos en los recién nacidos, al momento del nacimiento con los niños al primer mes de vida.

BIBLIOGRAFIA

AGUDELO, Clara I. et al. *Streptococcus pneumoniae*: evolución de los serotipos y los patrones de susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos invasores en 11 años de vigilancia en Colombia (1994 –2004). *Biomédica* 2006; 26:234-49

ALCALDÍA DE NEIVA, Secretaría de Salud Municipal. Boletín epidemiológico. Vol 2 N° 11, Febrero 2005.

ARÍSTEGUI J, Bernaola E, Pocheville I, García C, Arranz L, Durán G, et al. Reduction in pediatric invasive pneumococcal disease in the Basque Country and Navarra, Spain, after introduction of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.2007;26:303–10.

BARTOLOME M, Almirall J, Morera J, Pera G, Ortun V, Bassa J, et al. A population based study of the cost of care for community-acquired pneumonia. *Eur Respir J*. 2004;23(4): 610?6.

BERHMAN, RICHARD E. Nelson. Tratado de pediatría. 17° Edición. McGraw-Hill Interamericana. 2003.

BOGAERT D, Veenhoven R, Sluijter M, Wannet W, Rijkers G, et al.2005. Molecular epidemiology of pneumococcal colonization in response to pneumococcal conjugate vaccination in children with recurrent acute otitis media. *J. Clin. Microbiol*. 43: 74-83

BROWN J. OKOKO, Lalanga H. Wesumperum, et al. Materno-foetal transfer of *H. influenzae* and pneumococcal antibodies is influenced by prematurity and low birth weight: implications for conjugate vaccine trials. *Vaccine* 20 (2002) 647–650

CDC and Prevention. 2000.Prevention of pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the advisory committee on immunization practices (ACIP). *Morb Mortal Wkly Rep*;49:1-35

_____ Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease. United States, 1998–2003. *MMWR*. 2005;54:893–7.

_____ Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction—Eight States, 1998–2005.*MMWR*.2008;57:144–8.

CHUDWIN, D. S., D. W. Wara, G. Schiffman, S. G. Artrip, and A. J. Amman. 1985. Maternal-fetal transfer of pneumococcal capsular polysaccharide antibodies.*Am. J. Dis. Child*. 139:378–380.

COLINO J, Shen Y, Snapper C. 2002. Dendritic cells pulsed with intact *Streptococcus pneumoniae* elicit both protein- and polysaccharide-specific immunoglobulin isotype responses in vivo through distinct mechanisms. J Exp Med;195:1-13.

COSTA-CARVALHO B, Carneiro-Sampaio M, Sole D, Naspitz C, Leiva L, et al. 1999. Transplacental transmission of serotype-specific pneumococcal antibodies in a Brazilian population. Clin Diagn Lab Immunol;6:650-4

CUTTS FT, Zaman SM, Enwere G, Jaffar S, Levine OS, et al. 2005. Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccine against pneumonia and invasive pneumococcal disease in The Gambia: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet; 365:1139-46.

DAGAN R, Lavi-Givon N, Zamir O, Fraser D. 2003. Effect of a nonavalent conjugate vaccine on carriage of antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* in day-care centers. Pediatr Infect Dis; 22: 532-9

DE MORAES-PINTO MI, Verhoeff C, Milligan P, et al. Placental antibody transfer: Influence of maternal HIV infection and placental malaria. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 1998;79(3):F202–205.

DI FABIO JL, Castañeda E, Agudelo CI, de la Hoz F, Hortal M, et al and the PAHO Sireva – Vigía Study. Group. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group.1993-1999. Pediatr Infect Dis J 2001; 20:959-67

ENGLUND JA, Glezen WP, Thompson C, et al. *Haemophilus influenzae* type b specific antibody in infants after maternal immunization. Pediatr Infect Dis J 1997;16:1122–30

F.A. MORAGA-LLOP, et al. Pneumococcal disease and emergence of serotypes in the vaccine era. Transient trends and serotype replacement?. Enferm Infecc Microbiol Clin.2009;27(1):1–4

FENOLL A, TARRAGO´ D, Casal J .Cambios epidemiológicos en España desde la introducción de la vacuna neumocócica heptavalente. En: Campins-Martí M, Moraga-Llop FA, editores. Vacunas2007. Madrid: GlaxoSmithKline; 2007. p. 137–49.

FIERRO, Dora E. et al. Frecuencia en Neumonía y Meningitis ocasionada por el *Streptococcus pneumoniae* en niños menores de 5 años en el HUHMP. Neiva, 2007. Trabajo de Grado(Medico y Cirujano), USCO. Facultad de Salud. Programa de Medicina

G. RAHAV, and E. Rubinstein. 2004. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in children. JAMA 292:716–720.

GLOVER, DAVID T., Hollingshead, Susan K. et al. *Streptococcus pneumoniae* Surface Protein PcpA Elicits Protection against Lung Infection and Fatal Sepsis. INFECTION AND IMMUNITY, June 2008, p. 2767–2776

GORDON S, Irving G, Lawson R, Lee M, Read R. 2000. Intracellular trafficking and killing of *Streptococcus pneumoniae* by human alveolar macrophages are influenced by opsonins. Infect Immun;68:2286-93.

GOWRISANKAR RAJAM, et al. Functional Antibodies to the O-Acetylated Pneumococcal Serotype 15B Capsular Polysaccharide Have Low Cross-Reactivities with Serotype 15C. clinical and vaccine immunology, sept. 2007, p. 1223–1227 vol. 14, no. 9 1556-6811/07

HORTAL M, RUVINSKY R, Rossi A, Agudelo CI, Castaneda E, Brandileone C, Camou T, Palacio R, Echaniz G, Di Fabio JL. 2000. Impact of *Streptococcus pneumoniae* on pneumonia in Latin American children. SIREVA-Vigia Group. Rev Panam Salud Pública; 8: 185 –95.

INOSOSTRA J., Villanueva S., Mason K.. Effects of absorption with Pneumococcal type 22Fpolysaccharide on maternal, cord blood and infant immunoglobulin G antineumococcal polysaccharide antibodies. CLINICAL AND DIAGNOSTIC LABORATORY IMMUNOLOGY, June 2005, p. 722–726

JEURISSEN A, Wuyts A, Kasran A, Ramdien-Murli S, Boon L, et al. 2002. Essential role for CD40 ligand interactions in T lymphocyte-mediated modulation of the murine immune response to pneumococcal capsular polysaccharides. J Immunol;168:2773-81.

KA"YHTY H, AuranenK, NohynekH, DaganR, Ma"kela" H. ThePneumococcal Carriage group (PneumoCarr). Nasopharyngeal colonization: a target for pneumococcal vaccination. ExpertRevVaccines.2006;5:651–68.

KONG F, Wang W, Tao J, Wang L, Wang Q, Sabananthan A, Gilbert G. 2005. A molecular-capsular-type prediction system for 90 *Streptococcus pneumoniae* serotypes using partial cpsA–cpsB sequencing and wzy- or wzx-specific. J Med Microbiol; 54: 351–6.

LAGOS R, Di Fabio JL, Moenne K, MuMA, Wasserman S, de Quadros C. El uso de la radiografía de para la vigilancia de neumonía presuntamente bacterianas en ni latinoamericanos. Rev Panam Salud Pública. 2003;13(5):294?302.

LEONARD EG, Canaday DH, Harding CV, Schreiber JR. Antigen processing of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine carrier protein CRM(197) differs depending on the serotype of the attached polysaccharide. *Infect Immun* 2003;71(7):4186–9.

LUCERO MG, Dulalia V, Parreno, Lim-Quianzon D, Nohynek H, et al. 2004. Pneumococcal conjugate vaccines for preventing vaccine-type invasive pneumococcal disease and pneumonia with consolidation on x-ray in children under two years of age. *Cochrane Database Syst Rev*; 18:CD004977.

MUNOZA FLOR M., Janet A. Englund , et al. Maternal immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine in the third trimester of gestation. *Vaccine* 20 (2002) 826–837

MUSHER DM 1992. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. *Clin. Infect. Dis.* 14:801-809)

MUSHER DM, Jhonson B, Watson D. 1990. Quantitative relationship between anticapsular antibody measured by enzyme-linked immunosorbent assay or radioimmunoassay and protection of mice against challenge with *Streptococcus pneumoniae* serotype 4. *Infect Immun*;58:3871-6.

MUSHER DM. Infections caused by *Streptococcus pneumoniae*: clinical spectrum, pathogenesis, immunity and treatment. *Clin Infect Dis* 1992;14:801-7.

MUSHER, Daniel M. Harrison, *Principios de Medicina Interna*. 16° Edición. Mc Graw-Hill Interamericana. 2005. 2872 p

NOTI-NEUMO, Boletín del Protocolo Internacional Serotipificación de *Streptococcus pneumoniae*. N° 15. *Instituto Nacional de Salud. Santa Fe de Bogotá. 1996*

O'DEMPSEY TJD, McArdle TF, Lloyd-Evans N, Baldeh I, Lawrence BE, Secka O, et al. Pneumococcal disease among children in a rural area of West Africa. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:431–7.

OOSTERHUIS-KAFEJA F, Beutels P, Van Damme P. Immunogenicity, efficacy, safety and effectiveness of pneumococcal conjugate vaccines (1998–2006). *Vaccine*. 2007;25:2194–212.

PAI R, Gertz RE, Beall B. 2006. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microb*;44:124-31.

QUATEERT SA, Kirch CS, Wiedl LJ, et al. 1995. Assignment of weight-based antibody units to a human antipneumococcal standard reference serum, lot 89-S. Clin Diag Lab Immunol 2: 590 -597.

QUIAMBAO Beatriz P., Hanna M. Nohynek et al. Immunogenicity and reactogenicity of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among pregnant Filipino women and placental transfer of antibodies. Vaccine 25 (2007) 4470–4477

R H, Leal A, De la Hoz F, et al. Vigilancia centinela de IRA baja por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Informe quincenal epidemiología nacional (IQUEN, Colombia) 1997:2(15).

RENNELS MB, Edwards KM, Keyserling HL. Safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal vaccine conjugated to CRM197 in United States infants. Pediatrics 1998;101(4 pt1):604–11.

ROA JA, Echandia CA. Emergencias y urgencias en pediatria neumon. Gu anticipatorias. 2ª ed. Cali, Colombia: Editorial Feriva; 2001.

RUIZ-CONTRERAS J. Vacunas neumocócicas conjugadas: presente y futuro. Enferm. Infecc Microbiol Clin. 2008;26 (Supl1):48–55.

SALINAS, Diego F. Estudio de la Resistencia antimicrobiana en el servicio de Medicina interna del HUHMP en hemocultivos y urocultivos. Neiva, 2006. 85p. Trabajo de postgrado(Medicina Interna). USCO. Facultad de Salud. Área de Medicina Interna.

SCHUTZE GE, Tucker NC, Mason Jr EO. Impact of the conjugate pneumococcal vaccine in Arkansas. Pediatr Infect Dis J 2004;23(12):1125–9.

SINGLETON, R. J., T. W. Hennessy, L. R. Bulkow, L. L. Hammitt, T. Zulz, D. A. Hurlburt, J. C. Butler, K. Rudolph, and A. Parkinson. 2007. Invasive pneumococcal disease caused by nonvaccine serotypes among Alaska native children with high levels of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine coverage. JAMA 297:1784–1792.

SMITH PG, Morrow R. 1991. Methods for field trials of interventions against tropical diseases. Oxford University Press. Oxford, UK. P57

SORENSEN RU, Leiva LE, Javier FC 3rd, Sacerdote DM, Bradford N, Butler B, Giangrosso PA, Moore C. Influence of age on the response to *Streptococcus pneumoniae* vaccine in patients with recurrent infections and normal immunoglobulin concentrations. J Allergy Clin Immunol 1998(b); 102: 215 - 221

THE LANCET. The world's forgotten children. Lancet 2003;361(9351):1.

VAN DEN BIGGELAARA, Anita. H.J., Richmondb, Peter C. et al. Neonatal pneumococcal conjugate vaccine immunization primes T cells for preferential Th2 cytokine expression: A randomized controlled trial in Papua New Guinea. *Vaccine* 27 (2009) 1340–1347

VEKEMANS J, Amedei A, Ota MO, D'Elios MM, Goetghebuer T, Ismaili J, et al. Neonatal bacillus Calmette-Guérin vaccination induces adult-like IFN- γ production by CD4+ T lymphocytes. *Eur Immunol* 2001;31(5):1531–5.

WALKER D, Fox-Rushby JA. Economic evaluation of communicable disease interventions in developing countries: a critical review of the published literature. *Health Econ.* 2000;9: 681–98.

WHO Collaborative Study. 1999. *Pediatr Infect Dis J* 18: S1 – S2.

WHO. Neonatal Tetanus. Progress toward the global elimination of neonatal tetanus, 1990–1997. WHO website: www.who.int/vaccines-diseases/diseases/NeonatalTetanus.htm, accessed 3 November 2000.

ANEXOS

Anexo A. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE DE LA MADRE:	
IDENTIFICACIÓN:	
FECHA DE NACIMIENTO DEL HIJO:	
FECHA ACTUAL: _____	EDAD: _____
PESO AL NACER: _____	TALLA AL NACER: _____
PERÍMETRO CEFALICO: _____	PERIMETRO TORÁCICO: _____
EXAMEN	FÍSICO:
_____	_____
_____	_____
OBSERVACIONES	

HISOPADO: SI ___ NO ___	
MUESTRA DE SANGRE SI ___ NO ___	
FECHA ACTUAL: _____	EDAD: _____
PESO : _____	TALLA : _____
PERÍMETRO CEFALICO: _____	PERIMETRO TORÁCICO: _____
EXAMEN	FÍSICO:
_____	_____
_____	_____
OBSERVACIONES	

HISOPADO: SI ___ NO ___	
MUESTRA DE SANGRE SI ___ NO ___	
FECHA ACTUAL: _____	EDAD: _____
PESO : _____	TALLA : _____
PERÍMETRO CEFALICO: _____	PERIMETRO TORÁCICO: _____
EXAMEN	FÍSICO:
_____	_____
_____	_____
OBSERVACIONES	

HISOPADO: SI ___ NO ___	
MUESTRA DE SANGRE SI ___ NO ___	

Anexo B. CONSENTIMIENTO INFORMADO: VACUNACIÓN DE LA MADRE

Efecto de la vacunación de mujeres en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23-valente contra el *Streptococcus pneumoniae* en la colonización nasofaríngea de sus hijos

El *Streptococcus pneumoniae* es una bacteria que produce enfermedades en el tracto respiratorio como neumonía (pulmonía) que se caracteriza por tos a veces con expectoración con sangre, fiebre y hervidera en el pecho con dificultad respiratoria que le puede causar la muerte a los niños. Además esta bacteria puede afectar otros órganos como el cerebro (meningitis), los oídos (otitis) y los senos paranasales (sinusitis) por lo que se están diseñando estrategias que permitan la disminución de estos problemas.

Solicitamos su colaboración en el estudio para lo cual estaremos aplicando una vacuna en el brazo derecho a las mujeres embarazadas, como usted, en los últimos tres meses del embarazo, para que las defensas que se originen pasen a través de la placenta a los niños y nazcan con más defensas contra esta bacteria. Le estaremos tomando una muestra de sangre antes de aplicarle la vacuna y una muestra de sangre un mes después para analizar si las defensas contra esta bacteria han aumentado. Igualmente, tomaremos muestra de sangre del cordón umbilical en el momento del parto para analizar la cantidad de defensas que le estarán pasando al niño. Para saber que bacterias viven en su nariz y garganta y en la de su niño le tomaremos una muestra de su garganta en el momento del parto y a su niño le tomaremos dos muestras de la garganta una a los 3 y otra a los 6 meses de edad, para saber que bacterias viven en la garganta de su niño a esa edad. Igualmente a los seis meses de edad de su niño le tomaremos del antebrazo una muestra de sangre (3 ml).

Efectos adversos. Es importante mencionar que esta vacuna no se encuentra autorizada actualmente para su uso en el embarazo, pero estudios realizados hasta el momento corroboran que la vacuna no representa ningún riesgo para usted ni para su embarazo. Para mayor seguridad estaremos controlando su embarazo y el momento del parto muy atentamente

Puede presentar una ligera molestia en el brazo una vez aplicada la vacuna. La toma de la muestra de la garganta no representa ningún riesgo para usted ni para su niño

Derechos. Usted tiene derecho a retirarse del estudio cuando lo considere sin dar ninguna explicación, el estudio no tendrá ningún costo para usted, la vacuna tampoco tendrá ningún costo. Los resultados y los análisis que se obtengan de usted y de su niño son confidenciales, serán divulgados en forma anónima, es decir no se revelará ni su nombre ni el de su niño.

Si usted desea hacer cualquier consulta sobre el estudio puede contactar a investigadores en la ciudad de Neiva (Huila):

Dr. Jairo Antonio Rodríguez. Universidad Surcolombiana. Tel 8742125

Dra. Doris Salgado. Hospital Universitario Hernando Moncaleano Perdomo. Tel. 8715907

Anexo C. CONSENTIMIENTO INFORMADO VACUNACIÓN DE LA MADRE

Efecto de la vacunación de mujeres en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23-valente contra el *Streptococcus pneumoniae* en la colonización nasofaríngea de sus hijos

Si usted desea participar en este estudio, por favor complete los datos de siguientes y conserve una copia de este documento.

Yo, _____

Nombre completo de la persona que entrega el consentimiento

Declaro que me explicaron los objetivos y los procedimientos de este estudio y que tuve la posibilidad de hacer preguntas para aclarar mis dudas.

Doy voluntariamente mi consentimiento para participar en este estudio

Entiendo que el personal a cargo del estudio me vacunará en los últimos tres meses de mi embarazo, que la vacuna no tiene ningún efecto sobre mi embarazo y que mis datos permanecerán confidenciales.

Firma de la persona que entrega el consentimiento

Fecha: ___ de _____ del 200_

Nombre completo del profesional que obtuvo el consentimiento

Firma del profesional que obtuvo el consentimiento

Testigo 1	Testigo 2
Nombre:	Nombre:
Firma:	Firma

Anexo D. CONSENTIMIENTO INFORMADO.TOMA DE MUESTRA NASOFARÍNGEA Y DE SUERO

Efecto de la vacunación de mujeres en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23-valente contra el *Streptococcus pneumoniae* en la colonización nasofaríngea de sus hijos

Investigador Responsable: Jairo Antonio Rodríguez

Estimada señora:

Streptococcus pneumoniae es una bacteria que habita en la nariz y garganta de los seres humanos y es una de las principales causas de enfermedad (otitis, neumonía, meningitis) y muerte en niños menores de 5 años.

El objetivo de esta investigación es evaluar si la vacunación de la madre, en el tercer trimestre de la gestación, con la vacuna polisacárida 23-valente contra *S. pneumoniae*, puede producir una respuesta inmune en niños menores de seis meses de edad, como una estrategia para disminuir la colonización nasofaríngea, el número y la severidad de las infecciones causadas por esta bacteria en este grupo de edad.

Para la presente investigación se van a realizar dos procedimientos:

1. A la madre se le va a tomar una muestra nasofaríngea antes del parto y a los niños(as) nacidos dos muestras la primera a los 3 meses y la segunda a los 6 meses de edad. El procedimiento consiste en introducir suavemente en la nariz un escobillón delgado con el propósito de tomar una muestra. Este procedimiento causa sólo una ligera molestia local.
2. A los 6 meses de edad al niño se le va a tomar una muestra de sangre (3 ml) del brazo, que producirá una ligera molestia en el niño. Ambos procedimientos serán realizados por un médico del equipo de investigación

Queremos invitarla a participar en este estudio, permitiéndonos tomar las muestras de usted y de su hijo/hija. Su participación es completamente voluntaria y requiere la autorización libre e informada de la madre o del padre de cada niño.

Riesgos y beneficios del estudio: Las muestras de secreción de la garganta se obtienen introduciendo un hisopo (varillita flexible con algodón en la punta) a través del orificio de la nariz. Este procedimiento produce una molestia moderada,

que dura 20 a 30 segundos como máximo. A veces puede ocurrir un leve raspado de la parte interior de la nariz, que podría causar un pequeño sangrado haciendo que el moco tenga color rosado. Aparte de estas molestias momentáneas, este procedimiento no tiene riesgo para la salud del niño.

El estudio no acarreará beneficios directos para los participantes pero, sin embargo, la información reunida permitirá evaluar el efecto de la vacunación contra *S. pneumoniae* y ello conllevaría un beneficio para todos los niños que estén en edad de riesgo de contraer las enfermedades que causan esta bacteria ya que indicará si es necesario vacunar a todas las madres.

Derechos de los participantes: La participación es completamente libre, voluntaria y gratuita. Si usted decide rechazar esta invitación a participar, ello no afectará la atención que usted o su niño reciben en el este centro de salud o escuela, ni perderá ninguno de los beneficios que le corresponden por ley. Toda la información que reunamos en el estudio acerca de su niño o de su familia será guardada en forma confidencial y anónima. Sólo el personal a cargo del estudio y el Comité de Ética que lo supervisa podrá tener acceso a sus datos personales, o los de su hijo (a).

Si usted desea hacer cualquier consulta sobre el estudio de colonización puede contactar a los investigadores: Dr. Jairo Antonio Rodríguez. Tel 8715230 y 8742125 en Neiva.

Para proteger los derechos y la seguridad de su hijo (a), este estudio fue revisado y aprobado por los Comité de Ética de la Universidad Surcolombiana y del Instituto Nacional de Salud (INS) de Colombia .



Declaración de Consentimiento Informado

Efecto de la vacunación de mujeres en el tercer trimestre del embarazo con la vacuna 23-valente contra el *Streptococcus pneumoniae* en la colonización nasofaríngea de sus hijos

Si usted autoriza que usted y su niño(a) participe en este estudio, por favor complete los datos siguientes y conserve una copia de este documento.

Yo, _____

(Nombre completo de la persona participante en el estudio)

declaro que me explicaron los objetivos y los procedimientos de este estudio y que tuve la posibilidad de hacer preguntas para aclarar mis dudas.

Doy voluntariamente mi consentimiento para participar yo y mi hijo / hija, en el desarrollo de este proyecto de investigación.

Entiendo que el personal a cargo del estudio revisará los registros médicos míos y de mi hijo/hija, nos tomará muestras de secreción de la nasofaringe y muestras de sangre del cordón umbilical en el momento del parto y del brazo de mi hijo a los 6 meses de edad, para investigarlas en el laboratorio

Firma de la persona participante en el estudio

Nombre completo y firma del profesional que obtuvo el consentimiento

Testigo 1	Testigo 2
Nombre:	Nombre:
Firma:	Firma
CC. No.	CC. No

Fecha: _____

Anexo E. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 4. Cronograma de actividades

Actividad (por trimestres)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Etapa de preparación, adquisición de insumos, de equipos												
Revisión bibliográfica												
Estandarización anticuerpos IgG anti-neumocócicos												
Consulta gineco-obstétrica, selección de las madres												
Aplicación de la vacuna 23-valente												
Consulta neonatal												
Toma de muestras de sueros												
Determinación de anticuerpos												
Análisis de resultados												
Publicación de resultados y entrega de informe final												

Anexo F. PRESUPUESTO

Tabla 5. Presupuesto global de la propuesta por fuentes de financiación (en miles de \$).

RUBROS	FUENTES				TOTAL
	GOBERNACION		CONTRAPARTIDA		
	USCO	INS	USCO	INS	
PERSONAL			146382	17500	163882
EQUIPOS					
Solicitados	72000				72000
Uso propio			6800	44838	51638
MATERIALES	95032	15000	15632	2000	127664
SALIDAS DE CAMPO					
MATERIAL BIBLIOGRÁFICO			1000		1000
PUBLICACIONES Y PATENTES			1000		1000
SERVICIOS TÉCNICOS					
VIAJES			2700		2700
ADMINISTRACION (3% del total solicitado)			5772.42		5772.42
SUBTOTAL	167032	15000	179286.42	64338	425656.42
TOTAL		182032	179286.42	64338	425656.42

Tabla 6. Descripción de los gastos de personal (en miles de \$).

Nombre del investigador/ experto/ auxiliar	Formación académica	Función dentro en el proyecto	Dedicación Horas-semana/meses	RECURSOS			TOTAL	
				Colciencias*	Contrapartida			
					UNAL	USCO		INS
Jairo Antonio Rodríguez	MD, PhD Inmunólogo	Investigador principal	20/24			54000	54000	
Doris Martha Salgado	MD, pediatra	Co-investigadora	10/24			19200	19200	
Martha Rocío Vega Vega	MD, Pediatra	Co-investigadora	10/24			18000	18000	
Dolly Castro	MSc, Epidemióloga	Co-investigadora	10/24			21000	21000	
Martha Arce	Bacterióloga Especialista	Co-Investigadora	5/24			12150	12150	
Yamileth Monje	Bacterióloga	Apoyo	20/24			22032	22032	
Jaime Moreno	M.Sc, Microbiología	Co-investigador	10 /24				17500	
TOTAL						124350	17500	163882

Tabla 7. Descripción de los equipos que se planea adquirir (en miles de \$).

Equipo	Justificación	Recursos		TOTAL
		Colciencias *	Contrapartida USCO	
Congelador de -70°C	Conservación de muestras y reactivos	37000		37000
Centrífuga refrigerada	Procesamiento de muestras	18000		18000
Destilador	Agua pura	17000		17000
TOTAL		72000		72000

* Para la USCO

Tabla 8. Descripción y cuantificación de los equipos de uso propio (en miles de \$)

EQUIPO	VALOR (CONTRAPARTIDA)	
	USCO	INS
Nefelómetro	3500	
Lector y lavador de ELISA	2500	
Incubadora	500	
Rotador de placas	300	
Termociclador Lab -Line		3124
Termociclador MJ Research		9764
Centrífuga refrigerada Beckman		16480
Centrífuga IEC		1539
Micropipetas		1852
Fuente de poder Bio Rad (2)		549
Cabina flujo laminar		7414
Cámaras electroforesis		380
Baño serológico		18
Horno microondas		195
Balanza analítica		460
Cámara fotográfica		3045
Transiluminador		18
TOTAL	6800	44838

Tabla 9. Descripción del software que se planea adquirir (en miles de \$).

SOFTWARE	Justificación	RECURSOS		TOTAL
		Gobernación	Contrapartida	
Graph Prism	Análisis de resultados		3000	3000
TOTAL			3000	3000

* Para la USCO

Tabla 10. Descripción y justificación de los viajes (en miles de \$)

Lugar /No. De viajes	Justificación	Pasajes (\$)	Estadía (\$)	Total días	Recursos		Total
					Colciencias	USCO	
Bogotá (1)	Se requiere entrenamiento en técnicas microbiológicas para toma correcta de muestra nasofaríngea, siembra y aislamiento del <i>S. pneumoniae</i> . Esta visita se realizará al INS	550	800	6		1350	1350
Congreso nacional	Difusión parcial de resultados obtenidos, con el fin de socializarlos a la comunidad científica	800	550	3		1350	1350
TOTAL		1250	975	8		2700	2700

Tabla 11. Materiales y suministros (en miles de \$)

Materiales*	Justificación	Gobernación		Contrapartida	
		USCO	INS	USCO	INS
Polisacáridos capsulares	Antígenos específicos para determinación de los anticuerpos	10000		1280	
Polisacárido C	Absorción de anticuerpos	3000		480	
Placas de ELISA	Realización de la técnica de Elisa	5000		800	
Tween, PBS, sustrato	Reactivos para la técnica Elisa	4000		480	
Anticuerpos anti-IgG conjugados	Reactivos para la técnica de Elisa	10000		640	
Determinación de inmunidad humoral	Descarte de inmunodeficiencias primarias previas	20000		1600	
Estuche para la determinación de MBL	Descarte de inmunodeficiencias primarias	3000		480	
Papelería	Reporte de resultados			3000	
Material fungible	Toma de muestras, procesamiento de muestras, almacenamiento de las muestras, puntas, etc	20032		2432	1000

Vacuna 23-valente (50)	Administración de la vacuna	15000			
Transporte de muestras	Envío de medios de transporte a Neiva y de muestras a Bogotá	1.000		160	
Reactivos de PCR	Realizar la pruebas de PCR para la determinación de los serotipos de <i>S. pneumoniae</i> *		1500 0	3480	1000
Subtotales		95032	1500 0	15632	2000
TOTAL			110032	15632	2000

Tabla 12. Otros recursos (en miles de \$)

Ítem	Justificación	Valor
Subscripción Pediatrics Infections Disease Journal 2007	revisión bibliográfica	1000
TOTAL		1000

Para la USCO