

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE CIENFUEGOS
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
“PEDRO KOURÍ”**

**Seguridad, respuesta inmune y cambios en la
colonización nasofaríngea asociados a la
vacunación antineumocócica en niños
preescolares. Cienfuegos, 2013-2016**

**TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS**

Dra. Dunia Maria Chavez Amaro, MSc.

**CIENFUEGOS
2019**

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE CIENFUEGOS

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL

“PEDRO KOURÍ”

**Seguridad, respuesta inmune y cambios en la
colonización nasofaríngea asociados a la
vacunación antineumocócica en niños
preescolares. Cienfuegos, 2013-2016**

**TESIS PRESENTADA EN OPCIÓN AL GRADO CIENTÍFICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS MÉDICAS**

Autor: Dra. Dunia Maria Chavez Amaro, MSc.

Tutores: Prof. Nivaldo Linares Pérez, Dr. C.

Prof. Tit. María Felicia Casanova González, Dr. C.

CIENFUEGOS

2019

AGRADECIMIENTOS

El camino de la vida está lleno de retos y desafíos. La investigación científica contribuye a la formación y desarrollo de capacidades muchas veces inesperadas. En este andar siempre te acompañan personas que aportan de su tiempo y sabiduría desinteresadamente, a quienes quisiera agradecer.

A mi esposo, por dedicarme su vida y entregarme su amor, ser mi fuerza para levantarme y confiar. Por estar siempre presente. Sin él no creo poder lograrlo.

A mis tres princesas (Betty, Anita y Lore), fuentes inspiradoras de mis sueños, por permitirme robarles de su tiempo para trabajar en pos del bien de los demás.

A mis padres y familiares, quienes con solo su presencia llenan mi alma y guían mi actuar.

A mi querida amiga y maestra María Casanova por ofrecerme su apoyo, regalarme su experiencia, sabiduría, ser mi consejera y permitirnos formar parte de su familia.

La ciencia necesita de personas dedicadas, creadoras, modestas y desinteresadas a eso me enseñaron mis maestros, Dr. Nivaldo Linares y Dra. María Eugenia Toledo, sin ellos no sería un éxito esta investigación.

A mis profesores, amigos y compañeros de largas jornadas. Gracias por ayudarme y poder contar siempre con su apoyo.

A los niños cienfuegueros por ser los autores anónimos. A todos mi gratitud.

DEDICATORIA

A la Santísima Trinidad por iluminar y bendecir mi camino,

A mi esposo e hijas,

A mis padres y familiares,

A mis amigos.

SÍNTESIS

Antecedentes: La evaluación del candidato vacunal cubano contra el neumococo (PCV7-TT) ha significado un reto en la investigación clínica de vacunas preventivas para su registro sanitario y monitoreo del impacto. **Objetivo:** Evaluar la seguridad, inmunogenicidad y los cambios en la colonización nasofaríngea (CNF) asociados a la vacunación antineumocócica en preescolares de Cienfuegos, 2013-2016. **Métodos:** Se combinaron tres diseños metodológicos: 1) estudio observacional transversal analítico para estimar la proporción de CNF y los factores de riesgo asociados; 2) ensayo clínico controlado, aleatorizado, a doble ciego para evaluar la seguridad e inmunogenicidad de PCV7-TT comparado con Pevnar13[®] y 3) estudio de casos y controles tipo caso-caso para explorar los efectos tempranos en la CNF en vacunados y población general. **Resultados:** La CNF se produce desde los primeros meses de vida, alcanzó mayores proporciones en los mayores de dos años (32%), con predominio de los serotipos vacunales (SV). PCV7-TT mostró perfil de seguridad e inmunogenicidad no inferior a la vacuna control Pevnar13[®]. Un año después de la vacunación existió una disminución en la CNF por SV, superior al 70%. **Conclusión:** La CNF por neumococo tiene elevadas prevalencias en niños cubanos. PCV7-TT resulta una alternativa segura, inmunogénica y reduce significativamente la carga de CNF.

Abreviaturas y acrónimos

CECMED	Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos
CEI	Comité de ética de la investigación
CMG IgG	Concentración media geométrica de anticuerpos
CNF	Colonización nasofaríngea
Dif%	Diferencia porcentual
EA	Evento adverso
EC	Ensayo clínico
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EN	Enfermedad neumocócica
ENF	Exudado nasofaríngeo
ENI	Enfermedad neumocócica invasiva
ENNI	Enfermedad neumocócica no invasiva
FR	Factores de riesgo
g	Gramos: unidad de medida de peso
IC	Intervalo de confianza
IFV	Instituto Finlay de Vacunas
IgG Anti PsC	Anticuerpos antipolisacáridos capsulares
IPK	Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”
Kg	Kilogramos: unidad de medida de peso
LNRN	Laboratorio Nacional de Referencia de Neumococo
µg/ml	Microgramos por mililitros
µg	Microgramos
µm	Micrómetros
mg	Miligramos
ml	Mililitros
Min	Mínimo
Max	Máximo
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPA	Actividad Opcionofagocítica (por sus siglas en inglés)
OPS	Organización Panamericana de la Salud
OR	Odds Ratio, razón de productos cruzados
PC	Producto comercial (Pevnar13®)
PCVs	Vacunas conjugadas contra neumococo (por sus siglas en inglés)
PCV7-TT	Candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contra el neumococo (por sus siglas en inglés)
PI	Producto investigación (Candidato vacunal cubano)

Pre IgG	Anticuerpos prevacunación
Post IgG	Anticuerpos postvacunación
PPV23	Vacuna polisacáridos antineumocócica 23 valente
PsC	Polisacáridos capsulares
SNV	Serotipos no vacunales
SNT	Serotipos no tipados
SR	Serotipos relacionados con la vacuna (6A y 19A)
SV	Serotipos vacunales (1, 5, 6B, 14, 18C, 19F, 23F)
TMG	Títulos medio geométrico
TT	Toxoide tetánico

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
Antecedentes.....	1
Justificación	4
Hipótesis.....	5
Objetivos	6
Valor teórico y metodológico.....	6
Novedad científica	7
Valor práctico y social.....	7
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO	8
1.1 <i>Streptococcus pneumoniae</i> y enfermedad neumocócica	8
1.2 Colonización nasofaríngea	13
1.3 Vacunas conjugadas antineumocócicas	15
1.3.1 Desarrollo histórico de la vacunación antineumocócica	15
1.3.2 Esquemas de vacunación y dosis.....	17

1.3.3 Candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contra el neumococo (PCV7-TT).....	19
1.4 Seguridad y respuesta inmune de las vacunas conjugadas antineumocócicas	21
1.5 Efectos de las vacunas conjugadas antineumocócicas sobre la colonización nasofaríngea y la enfermedad neumocócica	23
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA.....	26
2.1 Diseño de la investigación	26
2.2 Técnicas y procedimientos	28
2.2.1 Estudios sobre colonización nasofaríngea previos a la vacunación antineumocócica	28
2.2.1.1 Prevalencia de colonización nasofaríngea prevacunación en el grupo de 2 a 18 meses.....	28
2.2.1.2 Proporción de colonización nasofaríngea prevacunación en el grupo de preescolares de 1 a 5 años institucionalizados en círculos infantiles.....	30
2.2.2 Evaluación de la seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contra el neumococo	31
2.2.3 Evaluación de los cambios en la colonización nasofaríngea asociados a la administración de PCVs.....	35
2.3 Aspectos éticos.....	39

2.4 Limitaciones y fortalezas de la investigación.....	40
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
3.1 Estudios de colonización nasofaríngea previos a la administración de la vacunación antineumocócica.....	42
3.1.1 Prevalencia de colonización nasofaríngea en niños de 2 a 18 meses de edad	42
3.1.2 Proporción de colonización nasofaríngea en niños preescolares de 1 a 5 años de edad institucionalizados en círculos infantiles	52
3.2 Evaluación de la seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano heptavalente contra el neumococo.....	58
3.3 Evaluación de los cambios en la colonización nasofaríngea un año después de la administración de vacunas antineumocócicas	69
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN GENERAL.....	82
CONCLUSIONES	86
RECOMENDACIONES.....	87
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
ANEXOS	111

INTRODUCCIÓN

Antecedentes

La enfermedad neumocócica es el término que se utiliza para describir de forma general las infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae* (neumococo). Afecta principalmente a niños y adultos donde la neumonía, la meningitis, la otitis media, la sinusitis y la sepsis, son las formas más frecuentes de la enfermedad (1).

La infección por neumococo continúa siendo un serio problema de la salud pública mundial. Se estima que cada año mueren más de un millón y medio de personas, principalmente por neumonías. En una revisión sistemática reciente se evidenció, que en el mundo 900 000 muertes en menores de cinco años fueron por esta causa, que representaba el 15% de todas las defunciones para este grupo de edad (2).

Esta bacteria es la responsable del 30% al 50% de todas las defunciones relacionadas con neumonía para los menores de cinco años. En África subsahariana más de la mitad de los fallecimientos, en este grupo de edad, se debe a esta causa (3).

Además de la elevada mortalidad que se describe, la infección por neumococo tiene una carga estimada de 14,5 millones de episodios de enfermedad grave en niños pequeños cada año en el mundo (2).

En una revisión sistemática publicada en el 2016 sobre otitis media aguda, que incluyó estudios publicados desde 1970 hasta el 2014 en varias regiones del mundo (Asia, Europa, América, Oceanía, África), se reportó que la incidencia en menores de cinco años, tenía un rango entre 1 171 hasta 36 000 episodios por cada 100 000 niños. Al evaluar la etiología se encontró que el germen más frecuentemente aislado era el neumococo (28% de los aislamientos) ⁽⁴⁾.

Una investigación realizada en el 2016 en Corea, informó como las causas más frecuentes de enfermedad neumocócica invasiva a las neumonías (52,6%), bacteriemia (21,3%) y meningitis (10%), con elevada mortalidad entre 14% y 30%. Los serotipos 19F, 3 y 23F se consideraron los más aislados ⁽⁵⁾.

En estudio basado en datos de 15 años de vigilancia epidemiológica realizado en Cuba, se reportó una incidencia total de 1,3 por 10⁵ habitantes de meningitis neumocócica. Esta fue más frecuente en el menor de un año y particularmente letal para los menores de cinco años. Se concluyó que en la última década el neumococo es el principal agente causal y más letal de la meningitis bacteriana en nuestro país ⁽⁶⁾.

Se reconoce que las enfermedades causadas por neumococo están precedidas de colonización nasofaríngea (CNF) asintomática de mayor o menor duración ⁽⁷⁾.

Las edades en que frecuentemente se produce la colonización nasofaríngea van desde un mes de vida hasta los cinco años y se corresponde precisamente con la mayor incidencia de la enfermedad neumocócica. Se estima que prácticamente todos los niños en algún momento de su etapa preescolar han sido colonizados por neumococo ⁽⁸⁾.

Existe una amplia variabilidad en cuanto a la CNF por neumococo que depende de la región geográfica, la edad y el uso de antibióticos. El desarrollo de las vacunas profilácticas (Pevnar7[®], Synflorix[®] y más recientemente Pevnar13[®]) ha contribuido a mejorar sustancialmente la salud humana y la prevención de enfermedades infectocontagiosas. Se ha demostrado, que la efectividad de las actuales vacunas conjugadas contra el neumococo (PCVs), es mayor si se inmuniza previo a la colonización por el germen ⁽⁹⁾.

Es importante resaltar que a pesar de la prevalencia de la enfermedad neumocócica invasiva, la colonización nasofaríngea por neumococo tiene mayor significación para el entorno que para el propio colonizado debido a la potencial contagiosidad ⁽⁷⁾.

El Sistema Nacional de Salud cubano a pesar de tener como máxima prioridad la vacunación contra enfermedades infecciosas y tener garantizada una elevada cobertura en la población infantil, no ha podido acceder a la vacuna antineumocócica para garantizar coberturas sostenibles en la población infantil, precisamente por el elevado precio de cada dosis que se comercializa. Por este motivo se decidió desde hace más de una década apostar al desarrollo de un candidato vacunal sobre la base de la fortaleza de la ciencia en el país.

El candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contra el neumococo se encuentra actualmente en fase de evaluación clínica avanzada, con el objetivo de lograr su registro e introducción en el programa nacional de vacunación. La formulación contiene 2µg de los polisacáridos capsulares de los serotipos 1, 5,

14, 18C, 19F y 23F y 4 μ g de 6B, conjugados a toxoide tetánico como proteína portadora y sulfato de aluminio como adyuvante.

Justificación

En Cuba, no existen estudios poblacionales previos que documentan la prevalencia de colonización nasofaríngea en niños menores de cinco años. Constituye además una exigencia regulatoria demostrar la seguridad, respuesta inmune y los posibles cambios en la CNF asociados a la vacunación con PCVs en los preescolares, previo a la introducción de un nuevo candidato vacunal.

Esta investigación intenta abordar todas estas aristas del conocimiento científico aún sin respuesta. Además, ha desempeñado un papel importante en la conducción de la estrategia cubana propuesta para la evaluación clínica y de impacto del candidato vacunal cubano. Esto último ha representado un reto metodológico y práctico para su registro sanitario, porque incluye varios grupos metas, la necesidad de comparar varios esquemas y demostrar el efecto de la concomitancia con varias vacunas del programa de inmunizaciones. Además por la necesidad de documentar el impacto sobre la colonización nasofaríngea, incluido entre los endpoints principales. Ello implica realizar estudios de línea de base que aborden el comportamiento de la colonización nasofaríngea por neumococo y determinar los serotipos circulantes más frecuentes en los niños preescolares.

Esta investigación representa la oportunidad de demostrar los cambios en la CNF, que pudieran asociarse a la vacunación antineumocócica previo a su introducción. También permite evidenciar, que Cuba cuenta con un candidato

vacunal seguro, capaz de inducir una respuesta inmune comparable con las vacunas comerciales registradas mediante la realización de un ensayo clínico controlado, aleatorizado, fase II/III en niños de 1 a 5 años, para impactar sobre el estado de salud de la población infantil.

Preguntas de investigación

Atendiendo a la problemática de salud en Cuba y el reto de diseñar e implementar investigaciones científicamente rigurosas que soporten la toma de decisiones para la introducción de nuevas vacunas, cabría entonces preguntarse:

¿Cuál es la proporción de colonización nasofaríngea por *Streptococcus pneumoniae* en grupos de niños de 2 a 18 meses y de 1 a 5 años de edad previo a la vacunación antineumocócica en el municipio de Cienfuegos?

¿Cuál es el comportamiento de la reactogenicidad y la respuesta inmune asociada a la administración de vacunas antineumocócicas en niños preescolares de Cienfuegos?

¿Cuál es el efecto directo sobre la colonización nasofaríngea por serotipos de neumococo en niños entre 1 y 5 años, después del primer año de administrada la vacunación antineumocócica?

Hipótesis

La administración de vacunas conjugadas antineumocócicas con seguridad e inmunogenicidad comparable y demostrada, puede reducir en más de un 50% la carga de colonización nasofaríngea por serotipos vacunales de neumococo, un año después de su administración en niños entre 1 y 5 años.

Objetivos

Objetivo general

Evaluar la seguridad, la respuesta inmune y los cambios en la colonización nasofaríngea asociados a la vacunación antineumocócica en niños preescolares de Cienfuegos, entre 2013 y 2016.

Objetivos específicos

1. Estimar la proporción de colonización nasofaríngea global y por serotipos de *Streptococcus pneumoniae* y factores de riesgo asociados en niños de 2 a 18 meses y de 1 a 5 años previo a la administración de la vacunación antineumocócica.
2. Evaluar la seguridad y la no inferioridad en la respuesta inmune del candidato vacunal cubano PCV7-TT comparado con la vacuna comercial Prevnar 13® en niños entre 1 y 5 años de edad.
3. Explorar los efectos tempranos en la colonización nasofaríngea global y por serotipos vacunales de *Streptococcus pneumoniae* en vacunados y población general.

Valor teórico y metodológico

- La investigación aporta al conocimiento sobre la proporción de colonización nasofaríngea en los niños menores de cinco años y los cambios que se suceden una vez vacunados con vacunas antineumocócicas seguras e inmunogénicas, nunca antes demostrado en Cuba.
- La metodología de evaluación de los cambios en la CNF asociados a la vacunación antineumocócica puede ser adoptada en otros estudios y

contextos para el seguimiento de los posibles cambios en la circulación de serotipos de neumococo.

Novedad científica

- Es la primera evidencia científica de la prevalencia de colonización nasofaríngea por neumococo en los menores de cinco años en Cuba, como línea de base a la introducción de la vacuna antineumocócica.
- Se evalúa por primera vez la seguridad y respuesta inmune del candidato vacunal cubano contra el neumococo en los niños de 1 a 5 años, se aporta el fundamento científico que sirve como evidencia para el registro e introducción en los niños cubanos.
- Este estudio constituye el primer registro de los cambios en la CNF asociados a la vacunación antineumocócica en niños preescolares, lo que resulta primordial para establecer nuevas estrategias de introducción de esta vacuna en la población cubana.

Valor práctico y social

- La demostración de la seguridad y respuesta inmune del candidato vacunal cubano, que resultó no inferior a la mejor vacuna disponible en el mercado, permitirá su registro y comercialización para su introducción en el programa nacional de vacunación.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 *Streptococcus pneumoniae* y enfermedad neumocócica

Streptococcus pneumoniae o neumococo fue descrito por primera vez en 1881, por Stenberg en Estados Unidos y Pasteur en Francia. En 1886, Fraenkel lo denominó *pneumococcus* debido a su tendencia de producir enfermedades pulmonares, pero no es hasta 1974 que se le concedió el nombre definitivo de *Streptococcus pneumoniae* ⁽¹⁰⁾.

Se trata de un coco Gram positivo, anaerobio facultativo, capsulado, que presenta bordes adyacentes redondeados y extremos puntiagudos, que le dan un aspecto ovoide o lanceolado. Suele agruparse en parejas o bien en cadenas cortas, de ahí que fuera clasificado antiguamente como *Diplococcus_pneumoniae* ⁽¹⁰⁾.

Esta bacteria tiene un tamaño aproximado de 1,2 a 1,8 μm de longitud. Para su crecimiento y multiplicación tiene requerimientos específicos, como aportes de proteínas y suplementos hematológicos ⁽¹¹⁾.

El neumococo, forma parte de la flora bacteriana normal de la mucosa nasal y faríngea, siendo su hábitat preferencial la nasofaringe posterior. Se transmite de persona a persona por la inhalación de gotitas de Pflügge infectadas o por autoinoculación, en personas portadoras de la bacteria en su tracto respiratorio alto ^(12, 13).

En la actualidad se describen más de 95 serotipos inmunológicamente distintos, que difieren según la estructura de su cápsula de polisacáridos. Esta cápsula constituye la piedra angular para la patogenicidad y antigenicidad de esta bacteria, toda vez que impide la opsonofagocitosis e induce en el organismo una respuesta inmune T independiente, impidiendo que los anticuerpos y el complemento alcancen las estructuras internas de la bacteria. La respuesta inmune es menos eficaz en menores de cinco años de edad (específicamente en los menores de dos años), debido a la “inmadurez fisiológica” de su sistema inmunológico. Por este motivo, los niños menores de cinco años constituyen una población en riesgo de padecer enfermedad neumocócica ⁽¹²⁾.

Los serotipos difieren en las propiedades biológicas, la capacidad patógena e invasora, los síndromes que producen, su capacidad para colonizar la nasofaringe y la resistencia a antibióticos. Los serotipos 1, 5, 7F y 14 tienen gran capacidad invasora ⁽¹⁴⁾.

Johnson y colaboradores ⁽¹⁵⁾, en una revisión sistemática realizada en el 2010 con 169 estudios de 70 países (60 090 aislamientos), encontraron que el serotipo 14 era el más común en todas las regiones del mundo, provocando entre el 12% y 29% de todas las enfermedades neumocócicas invasivas. El serotipo 6B se ubicaba segundo en cada región excepto África, y combinado con el 6A, este serotipo, estaba relacionado con el 14% al 18% de las enfermedades neumocócicas en todas las regiones. Los serotipos 1, 5 y 14 se aislaron entre un 28% y 43% de las enfermedades neumocócicas a nivel mundial.

Por su parte, los serotipos 23F y 19F fueron los responsables del 9% al 18% de las enfermedades neumocócicas en el mundo. En los países desarrollados como Estados Unidos, Canadá y Europa los serogrupos más prevalentes constituyeron el 6, 14, 19 y 23.

Antes del uso de las vacunas conjugadas antineumocócicas, los llamados serotipos pediátricos (6B, 6A, 9V, 14, 19A, 19F, 23F) eran los que con más frecuencia exhibían resistencia a antibióticos. Actualmente, en muchos países en los que se han introducido estas vacunas, el serotipo 19A es emergente y multirresistente. Fundamentalmente este serotipo mostró resistencia de alto nivel a la cefotaxima, evidenciado en una revisión sistemática y metanálisis donde se incluyeron 58 estudios de 38 países ⁽¹⁶⁾.

La información proveniente de 17 investigaciones sobre distribución de serotipos, cobertura vacunal con PCVs y susceptibilidad antimicrobiana en niños que viven en los países del sur de Asia, recogida en una revisión sistemática en el 2014 ⁽¹⁷⁾, informó que en Nepal el serotipo más frecuente fue el 1, en Bangladesh y la India el 14 y el 19F en Sri Lanka y Pakistán.

En Brasil en el año 2014, después de la introducción de la vacuna decavalente antineumocócica, se encontró que los serotipos 6C, 15B y 11A (serotipos no vacunales) se aislaron en los exudados nasofaríngeos de niños menores de seis años ⁽¹⁸⁾.

En Cuba se reportaron entre el 2007 y 2012 los serotipos 6A, 6B, 14, 19F y 23F, como los más frecuentes en aislamientos meníngeos, con tendencia al incremento de la resistencia a la penicilina ⁽¹⁹⁾.

Resultados más recientes asociados a la implementación de un sistema de vigilancia centinela ⁽²⁰⁾ para monitorear el impacto de la introducción de la vacunación antineumocócica, muestran que predominaron los aislamientos procedentes de casos de neumonías sobre las meningitis (76 aislamientos neumonías/49 meníngeos), donde el 85,8% quedaron representados en siete serotipos (14, 19A, 6A, 19F, 6B, 3 y 23F), por orden de frecuencia ⁽²¹⁾.

Como se ha explicado, existe una gran variabilidad en la composición de la cápsula de los serotipos de neumococo que afectan al ser humano, lo que complica notablemente la descripción epidemiológica de este germen. No obstante, estudios demuestran que entre un 15% y 20% de los serotipos de neumococo, causan la mayoría de las enfermedades neumocócicas a nivel mundial ^(22, 23).

La enfermedad neumocócica invasiva (ENI) representa la forma más grave de la enfermedad neumocócica y se define como la presencia de la bacteria en sangre, líquido cefalorraquídeo u otro fluido normalmente estéril. La definición de ENI no incluye a la neumonía, salvo que se acompañe de bacteriemia. Mientras que la enfermedad neumocócica no invasiva (ENNI) se refiere a sinusitis, bronquitis, infecciones del oído medio, neumonía no bacteriémica, entre otras ⁽²⁴⁾.

Actualmente se reporta una mortalidad media de alrededor de un 10%, que puede elevarse a más del 30% en los grupos de riesgo asociada a las formas invasivas de esta enfermedad ⁽²⁵⁾.

Las tasas de incidencia más elevadas de la ENI se registran en los grupos de edades extremos de la vida. En 26 países europeos, la incidencia de ENI en el

año 2010 en menores de un año de edad, se estimó en 18,5 casos/10⁵ habitantes y en mayores de 65 años en 15,6 casos/10⁵. Particularmente en España, se reporta una tasa de incidencia anual media de ENI en menores de dos años de 49,79 casos/10⁵ habitantes y de 20,76 casos/10⁵ habitantes a partir de los 65 años ⁽²⁶⁾.

La neumonía bacteriémica es la forma de presentación más frecuente de la ENI, y la mortalidad asociada va desde un 10% hasta un 30% sobre todo en las edades extremas (niños menores de dos años y mayores de 65 años) ⁽²⁷⁾.

La neumonía es un proceso inflamatorio agudo del parénquima pulmonar localizado o difuso que condiciona una condensación alveolar y/o intersticial, y que origina una clínica que varía según la edad, la etiología y las características del paciente confirmado por estudios imagenológicos.

Por su parte, la meningitis se define como una enfermedad del sistema nervioso central caracterizada por una inflamación de las meninges que puede afectar a las estructuras adyacentes, como el encéfalo. Es causada por bacterias que afectan las leptomeninges, y se presenta principalmente en la infancia ⁽²⁸⁾. Actualmente, el principal agente bacteriano causante de ambas enfermedades es el neumococo ⁽²⁹⁾.

En general, la enfermedad neumocócica tiene manifestaciones clínicas variadas en correspondencia con la forma de presentación. Los síntomas y signos más frecuentes son fiebre, dificultad respiratoria en mayor o menor grado, tos con esputo purulento o no, cefalea, dolor torácico, vómitos, otalgia, manifestaciones generales, convulsiones, estado toxicoinfeccioso, signos de respuesta

inflamatoria sistémica (taquicardia o bradicardia, polipnea, hipotermia o hipertermia, leucopenia o leucocitosis) hasta el shock con disfunción múltiple de órganos, entre otras ⁽²⁸⁾.

En relación con la forma de presentación de la enfermedad, la edad, la virulencia del germen, el estado inmunológico del paciente, comorbilidades asociadas se va a comportar la evolución clínica y el pronóstico de la enfermedad ⁽³⁰⁾.

Clásicamente se han asociado varios factores de riesgo que predisponen a padecer la enfermedad neumocócica, entre ellos están: las edades extremas, el área geográfica, las malas condiciones socioeconómicas, el hacinamiento, asistencia a guarderías o círculos infantiles, las inmunodeficiencias congénitas o adquiridas, las infecciones respiratorias previas o concomitantes (principalmente las de origen vírico), convivencia con mayores de 65 años y niños menores de cinco años de edad, estar enfermo con el virus de inmunodeficiencia humana, las leucosis o linfomas. Se describe además enfermedades respiratorias crónicas, trastornos cardíacos, renales, el alcoholismo, el tabaquismo sobre todo en los adultos ⁽³¹⁾.

1.2 Colonización nasofaríngea

La colonización nasofaríngea por neumococo se define como el momento inicial en el que la bacteria se aloja en la nasofaringe del individuo. Este evento puede ocurrir tempranamente en el primer semestre de la vida y la ocurrencia subsecuente de enfermedad neumocócica estará mediada por los ya descritos factores de riesgo. La detección y serotipificación se realiza a partir de exudados nasofaríngeos ⁽³²⁾.

Se calcula que entre el 25% y 60% de los niños en edad preescolar, el 35% en la edad escolar y un 29% de los adultos jóvenes se colonizan por neumococo, que está ligada en el caso de los adultos, a la convivencia con lactantes y párvulos (33).

En situaciones específicas, el neumococo es capaz de diseminarse a los pulmones, senos paranasales, oído medio y sangre, y a través de esta última a otras localizaciones (meninges, articulaciones, tejido celular subcutáneo), causando la enfermedad neumocócica (32).

En una revisión sistemática publicada en el 2014 (34), se reportó el efecto indirecto de la vacunación antineumocócica en la reducción en la colonización nasofaríngea en los convivientes de los niños vacunados, así como la disminución de la prevalencia de la CNF por serotipos vacunales en niños menores de cinco años no vacunados y adultos de la comunidad.

Abdullahi y colaboradores (35) observaron durante dos años en 2 840 niños, de 3 a 59 meses de edad, que 1 868 estaban colonizados por neumococo (65,77%). Describieron además, la transmisión y prevalencia de los 28 serotipos más frecuentes encontrados. Se demostró que la adquisición estaba fuertemente relacionada con la prevalencia del neumococo en la población y con los mecanismos de eliminación dependientes de la madurez inmunológica.

Estudios de colonización en niños han mostrado que un sujeto puede estar colonizado por diferentes serotipos al mismo tiempo y no desarrollar la enfermedad neumocócica (32). Por el contrario, otros investigadores plantean que

la colonización por varios serotipos de neumococo se ha vinculado con la incidencia de enfermedad neumocócica y su severidad ⁽³⁴⁾.

La transmisión intrafamiliar del neumococo se ha constatado no sólo entre hermanos, sino entre niños y adultos. Se describe que las cepas que colonizan a los ancianos son similares a la de los niños que conviven con ellos. Además, es importante resaltar que en cada episodio de infección respiratoria viral se incrementa significativamente el riesgo de colonización nasofaríngea y por tanto de enfermedad neumocócica invasiva ⁽³⁶⁾.

1.3 Vacunas conjugadas antineumocócicas

1.3.1 Desarrollo histórico de la vacunación antineumocócica

La evolución científica de la Medicina ha reflejado la necesidad de prevenir enfermedades transmisibles a través de vacunas. Después de las primeras descripciones del papel del neumococo en la génesis de enfermedades (finales del Siglo XIX), se inició una carrera destinada a prevenirlas ⁽³⁷⁾.

A principios del pasado siglo, Felton y Baily consiguieron la separación del polisacárido capsular y demostraron que esta era la fracción responsable de la inmunidad. Pero que no es hasta 1937, en que este material capsular se utilizó por primera vez con éxito en un programa de vacunación masiva para detener un brote de neumonía en un hospital general ⁽³⁸⁾.

Las primeras vacunas contenían dos o tres polisacáridos. Más adelante se autorizó la utilización de vacunas con seis polisacáridos, que se introdujeron después de la Segunda Guerra Mundial; no obstante, estas vacunas no se

difundieron a causa de la competencia generada por el desarrollo de los nuevos antibióticos destinados a combatir la enfermedad neumocócica ⁽³⁹⁾.

El interés por la vacuna antineumocócica se recuperó hacia la mitad de los años sesenta. En el año 1977 se introdujo una vacuna con 14 de los serotipos más frecuentes en Estados Unidos causantes del 80% de los casos de enfermedad neumocócica. En el año 1983 se comercializó otra vacuna a la que se le agregaron nueve serotipos para un total de 23, aumentando la protección hasta un 90% ⁽³⁹⁾.

La vacuna 23 valente (PPV23) protege contra los serotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6A, 6B, 8, 9V, 9N, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F y 33F. Es producida por los laboratorios *Merck* (Pneumovax) y *Sanofi Pasteur* en Francia (Pneumo 23). En una revisión sistemática y metanálisis se comprobó su eficacia en adultos, pero al no producir memoria inmunológica, su utilización en menores de dos años es restringida ⁽³⁹⁾.

La necesidad de superar estas limitaciones condujo al desarrollo de otras vacunas contra el neumococo. Se inició entonces la conjugación de los polisacáridos capsulares (PsC) de diferentes serotipos de neumococo a una proteína portadora, con el objetivo de transformar la respuesta inmune inducida de T independiente a T dependiente, y desarrollar la memoria inmunológica ⁽⁴⁰⁾.

Las vacunas conjugadas antineumocócicas (PCVs) son soluciones estériles que contienen un determinado número de polisacáridos capsulares purificados de neumococo, cada uno acoplado directamente a la proteína transportadora ⁽¹²⁾.

En el año 2000 se licenció la primera vacuna conjugada contra *Streptococcus pneumoniae* con el nombre comercial Prevnar7[®] (Pfizer, Estados Unidos); que contiene los siete serotipos de neumococo que frecuentemente causaban enfermedad neumocócica invasiva en los niños norteamericanos: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F acoplados a la proteína CRM₁₉₇ por aminación reducida. Esta proteína transportadora es una variante no tóxica de la toxina diftérica aislada de cultivos de *Corynebacterium diphtheriae*, obtenidos en medios enriquecidos con aminoácidos y extracto de levadura. Cada dosis contiene polisacáridos de los serotipos vacunales incluidos, acoplados a la proteína transportadora y como adyuvante el fosfato de aluminio ⁽⁴¹⁾.

Durante los años 2009 y 2010 se licenciaron otras dos vacunas conjugadas: Synflorix[®], una vacuna decavalente de la compañía *Glaxo Smith Klein* (Bélgica) y Prevnar13[®] de 13 valencias (*Pfizer*, Estados Unidos). Las dos vacunas tomaron como referencia la original siete valente, adicionándole tres nuevos serotipos (1, 5 y 7F) y seis nuevos serotipos (1, 3, 5, 7F, 6A y 19A) respectivamente ⁽⁴¹⁾.

1.3.2 Esquemas de vacunación y dosis

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la inclusión de vacunas antineumocócicas conjugadas en los programas de vacunación infantil a nivel global. Sugiere emplear esquemas de vacunación en menores de un año de tres dosis primarias (3p+0) o, como alternativa, dos dosis primarias y un refuerzo (2p+1), administradas tan pronto como a las seis semanas de edad. Se considera además, que la aplicación de una dosis de rescate durante la introducción de la PCVs acelera la protección colectiva y el impacto sobre la ENI y la neumonía en

los niños menores de cinco años de edad. Aconseja que en los niños no vacunados de 12 a 23 meses se utilicen dos dosis con intervalo de ocho semanas y en los niños de 2 a 5 años de edad dosis única ⁽⁴²⁾.

En una revisión sistemática ⁽³⁴⁾ se evaluaron los efectos indirectos de PCVs en diferentes esquemas de dosis sobre la enfermedad neumocócica y la CNF en poblaciones no vacunadas. Se revisaron los artículos publicados desde 1994 hasta 2010 y 2011 sobre PCVs (Pevnar7[®], Pevnar13[®] y Synflorix) y vacuna antineumocócica de polisacáridos (PPV23) empleada en la población de niños menores de cinco años de edad y adultos respectivamente, que permitieron evaluar los efectos de estas vacunas sobre la colonización nasofaríngea y la ENI. Los estudios observacionales de vacunas usadas con esquemas de "2p+1", "3p+0" y "3p+1", demostraron reducciones en la incidencia de ENI y neumonía entre los grupos de adultos jóvenes, y fueron especialmente significativos los resultados para el esquema "3p+1". Dos ensayos clínicos controlados que emplearon esquemas de tipo "3p+0" y "3p+1", y tres estudios observacionales para los esquemas "2p+1", "3p+1" y "3p+PPV23", mostraron un efecto indirecto significativo. Un estudio que comparó directamente los esquemas "2p+0" y "2p+1", no encontró un efecto indirecto sobre la CNF en los hermanos mayores y los padres de los niños vacunados con estos esquemas.

La revisión concluyó que el beneficio indirecto de la administración de un esquema de dosis tipo "3p+1" de la PCVs en lactantes, fue significativo sobre la ENI, la CNF y neumonía; mientras que, los esquemas de tipo "2p+1" y "3p+0" demostraron efectos indirectos sobre la ENI principalmente.

Existen evidencias en otra revisión sistemática sobre el efecto de los esquemas de dosis de PCVs sobre la ENI por serotipos vacunales en niños⁽⁹⁾. Se incluyeron estudios de América y Europa donde se muestran los beneficios de diferentes esquemas de vacunación sobre la enfermedad invasiva tras la administración de esquemas de vacunación de dos y tres dosis, con y sin refuerzo ("2p+0", "2p+1", "3p+0" y "3p+1"). Datos de vigilancia y serie de casos consultados documentaron una reducción temprana (un año después de la introducción de PCVs) de la ENI de hasta 100%: con esquemas de inmunización "2p+1" (seis estudios), "3p+1" (17 estudios) y de hasta 90% con "3p+0" (dos estudios).

El efecto de los diferentes esquemas de vacunación sobre la CNF⁽⁴³⁾ a partir de la información proveniente de 16 ensayos clínicos controlados y 11 estudios observacionales con diseño antes después incluidos en una revisión sistemática, demostraron una reducción de la colonización por serotipos vacunales de neumococo utilizando esquemas de inmunizaciones de tipo "2p+0", "2p+1", "3p+0" y "3p+1". Sin embargo, las comparaciones entre esquemas mostraron que la utilización de esquemas primarios de tres dosis puede lograr una mayor reducción de la CNF de serotipos vacunales, que los esquemas de inmunización basados en dos dosis primarias ("2p+1" y "2p+0").

1.3.3 Candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contra el neumococo (PCV7-TT)

El candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contiene siete serotipos de neumococo con alta prevalencia a nivel mundial (1, 5, 6B, 14, 18C, 23F). En América representan más del 70 % de los serotipos aislados⁽¹⁶⁾. Cada serotipo

está conjugado al toxoide tetánico (TT) como proteína transportadora (total de TT: 24,5 µg), como adyuvante se utilizó 125 µg de fosfato de aluminio y se agregó 0,058 mg de tiomersal.

Su obtención ha enfrentado una elevada complejidad científica, química, analítica y tecnológica, durante más de ocho años de desarrollo, por tratarse de una vacuna multivalente, basada en la conjugación de siete antígenos polisacáridos capsulares de neumococo a una proteína portadora (toxoides tetánico).

El candidato vacunal ha sido diseñado para ser utilizado en Cuba y en otros países. El número de serotipos se mantuvo a siete, pero con una selección diferente de la Prevnar7[®]. Cinco serotipos son los mismos contenidos en la formulación original de Prevnar7[®] (6B, 14, 18C, 19F y 23F). Los serotipos 1 y 5 fueron incluidos según criterios sugeridos por los productores de nuevas vacunas por su capacidad epidemiológica y su gran invasividad. Los serotipos 4 y 9V no se añadieron, porque registraban una prevalencia inferior al 1 y 5 a nivel mundial (16).

Como parte de la evaluación clínica de este candidato vacunal se han realizado varios estudios. Fue conducido un ensayo clínico aleatorizado controlado y a doble ciego (Fase I), en el cual se estudiaron 40 adultos sanos (44). Se utilizó como vacuna control la vacuna PPV23 (Registro Nacional de Ensayos Clínicos: RPCEC00000133). Se demostró que el candidato vacunal cubano resulta seguro para su uso en adultos sanos. La respuesta inmunológica mostró que la concentración de anticuerpos aumentó significativamente en los dos grupos ($p \leq 0,05$), respecto a los niveles prevacunación.

Para evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de la PCV7-TT en la edad pediátrica, 15 niños de 4 a 5 años de edad se estudiaron en un ensayo clínico Fase I, controlado, aleatorizado y doble ciegas, comparado con la vacuna Synflorix[®], utilizada como control ⁽⁴⁵⁾. Después de una sola dosis de vacunación, todos los serotipos incluidos en el candidato vacunal cubano tuvieron un aumento significativo de la IgG y los títulos opsonofagocíticos. Se observaron las primeras evidencias de una posible protección cruzada con los serotipos 6A y 19A. Este ensayo clínico fue publicado en el Registro Público cubano de ensayos clínicos con el código RPCEC00000173.

En general, el candidato vacunal cubano conjugado heptavalente, mostró baja reactogenicidad y las tasas de eventos adversos fueron comparables entre los grupos de estudio y control. Los títulos de anticuerpos y los porcentajes de individuos con títulos opsonofagocíticos, aumentaron significativamente después de la administración de las vacunas, sin que se detectaran diferencias significativas entre ellas.

1.4 Seguridad y respuesta inmune de las vacunas conjugadas antineumocócicas

Las vacunas conjugadas antineumocócicas han demostrado ser seguras e inmunogénicas en niños menores de cinco años para prevenir las formas invasivas y no invasivas de la enfermedad neumocócica e impactar sobre la CNF, como se ha evidenciado en múltiples estudios ^(8, 46).

Se plantea que una vacuna conjugada antineumocócica es segura cuando al administrarse no cause reacciones adversas y si las generan han de ser de carácter débil, transitorio y no producir secuelas ⁽⁴⁷⁾.

La OMS ha establecido correlatos de protección para las vacunas conjugadas contra neumococo. Estos correlatos se basan en la inducción de anticuerpos antipolisacáridos capsulares (anti PsC) mayor o igual a 0,35 µg/ml contra cada serotipo y títulos opsonofagocíticos superiores a 1:8. La demostración clínica de estos correlatos con criterio de no inferioridad respecto a la vacuna comercial es un requisito exigido para el licenciamiento de nuevas vacunas antineumocócicas ⁽⁴²⁾.

La seguridad de las vacunas conjugadas antineumocócicas en niños y lactantes se evidenció en 13 ensayos clínicos controlados conducidos en nueve países de Norteamérica, Europa y Asia, recogidos en un metanálisis ⁽⁴⁸⁾. Se demostró que la tasa de reacciones adversas locales, después de cada dosis de vacunación, fue similar entre Prevnar13[®] y Prevnar7[®]. La frecuencia de fiebre también fue similar entre los grupos, con predominio de la fiebre menor a 39°C. La incidencia de fiebre entre 39°C y 40°C para Prevnar13[®] fue de 2,8% después de cada dosis en el lactante y 5,0% en los niños mayores. Este estudio concluyó que ambas vacunas son seguras y que muestran similares perfiles de seguridad.

La información proveniente de 61 estudios analizados en una revisión sistemática ⁽⁴⁹⁾, demostró que la concentración media geométrica de los títulos de anticuerpos (CMG IgG) alcanzados después de la administración de las dos primeras dosis de las vacunas Prevnar7[®] y Prevnar13[®], fue mayor con esquemas de tres dosis

que con esquemas de dos dosis para todos los serotipos de neumococo, excepto para el 1. Sin embargo, estas concentraciones fueron similares después de administrar una dosis de refuerzo en cualquiera de los dos esquemas de vacunación utilizados. Para todos los serotipos de neumococo la respuesta inmunológica fue mayor cuando la tercera dosis fue administrada en el segundo año de vida (esquema "2p+1"), comparada con el menor de seis meses de edad, en quienes se ha empleado el esquema tipo "3p+0". Las revisiones concluyeron que las vacunas Pevnar13[®] y Pevnar7[®] son inmunogénicas, es decir, inducen una respuesta inmune que protege contra la infección por serotipos vacunales de neumococo, cuando son administradas en esquemas de dos y tres dosis.

Agarkhedkar y colaboradores ⁽⁵⁰⁾, en un estudio realizado en la India en 200 niños sanos, entre 6 y 17 años de edad a los que se le administró Pevnar13[®], corroboraron que la vacuna fue segura e inmunogénica frente a los serotipos vacunales.

Otros estudios también demostraron que las PCVs sensibilizan el sistema inmune para que generen una respuesta ante una segunda dosis administrada, producen memoria inmunológica y muestran buen perfil de seguridad ^(51, 52).

1.5 Efectos de las vacunas conjugadas antineumocócicas sobre la colonización nasofaríngea y la enfermedad neumocócica

Durante la introducción de las vacunas conjugadas antineumocócicas en los programas de vacunación, la OMS recomienda la aplicación de una dosis de refuerzo para acelerar la protección poblacional y el impacto sobre la enfermedad neumocócica invasiva y la neumonía, en los niños menores de cinco años. Se ha

demostrado su efecto sobre la colonización nasofaríngea por los serotipos que contiene la vacuna ⁽⁴²⁾.

En la revisión de ensayos controlados randomizados, estudios observacionales y de vigilancia desde el 1994 hasta 2013 en 14 países, se encontraron reducciones de las tasas de CNF y ENI por serotipos vacunales. Se sugirió además que el impacto de las PCVs sobre la disminución en la CNF debe ser incluido como un predictor de efecto indirecto en el proceso de licenciamiento de las vacunas antineumocócicas ⁽⁵³⁾.

En España, en estudios de caso control y seguimiento de cohortes durante 14 años, se comprobó el efecto directo, indirecto y total de la vacunación con Pevnar13[®]; y se evidenció el impacto sobre la población vacunada y no vacunada ⁽⁵⁴⁾.

Otros estudios observacionales realizados en Inglaterra, Europa y Canadá demostraron la disminución de los serotipos vacunales (serotipos incluidos en Pevnar7[®] y Pevnar13[®]) en la CNF y no solo la incidencia de la ENI sino también la disminución de la gravedad de los cuadros clínicos ⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾.

Desde la comercialización en Europa en el 2009, y específicamente en España desde el 2012, de las vacunas conjugadas antineumocócicas se ha observado una reducción de las hospitalizaciones por la enfermedad neumocócica invasiva del 83,8%, debido a neumonía bacteriémica (79%), neumonía complicada con derrame pleural (81%) y meningitis (56%) en niños menores de 15 años según se reporta en la literatura ⁽⁵⁸⁾.

Un reciente estudio realizado en Sudáfrica para determinar los cambios en la incidencia de ENI relacionados con los cambios en la CNF, reportó una disminución del 70% en la colonización nasofaríngea por serotipos vacunales y de 50% en la ENI en la era postvacunal, en los niños de tres meses a cinco años estudiados ⁽⁵⁹⁾.

2. METODOLOGÍA

2.1 Diseño de la investigación

Los resultados de esta investigación forman parte del “Proyecto Nacional de Vacuna de Neumococo”, en su componente de evaluación clínica y de impacto de la nueva vacuna conjugada cubana antineumocócica (PCV7-TT). Ha sido liderado en Cuba por investigadores del Instituto Finlay de Vacunas (IFV) en colaboración con instituciones y servicios del Ministerio de Salud Pública.

Para dar salida a los objetivos se combinaron tres diseños metodológicos. La población de referencia fue de 11 585 sujetos de dos meses a cinco años, en el municipio de Cienfuegos y el horizonte temporal se enmarcó entre el 2013 y 2016. Los estudios para estimar la proporción de colonización nasofaríngea global y por serotipos en niños entre 2 y 18 meses y entre 1 y 5 años (institucionalizados en círculos infantiles) se concibieron como observacional transversal de propósito analítico. Incluyó niños no vacunados con PCVs. Se obtuvo información sobre la asociación de la CNF con factores de riesgo individual y familiar.

Para evaluar la seguridad y respuesta inmune del candidato vacunal cubano heptavalente conjugado contra el neumococo, comparado con la vacuna comercial Prevnar13[®], en niños de 1 a 5 años de edad se condujo un estudio experimental, tipo ensayo clínico controlado (Fase II/III), aleatorizado y a doble ciego.

El estudio de seguimiento para explorar los cambios en la CNF asociados a la vacunación antineumocócica fue anidado en el ensayo clínico con un diseño de casos y controles, tipo caso-caso (case crossover). Incluyó una submuestra de niños vacunados en el ensayo clínico que fueron evaluados un año después (Figura 1).

Los pediatras de las áreas de salud fueron los responsables de la información a los padres, la obtención del consentimiento informado y de la evaluación clínica de los niños elegibles.

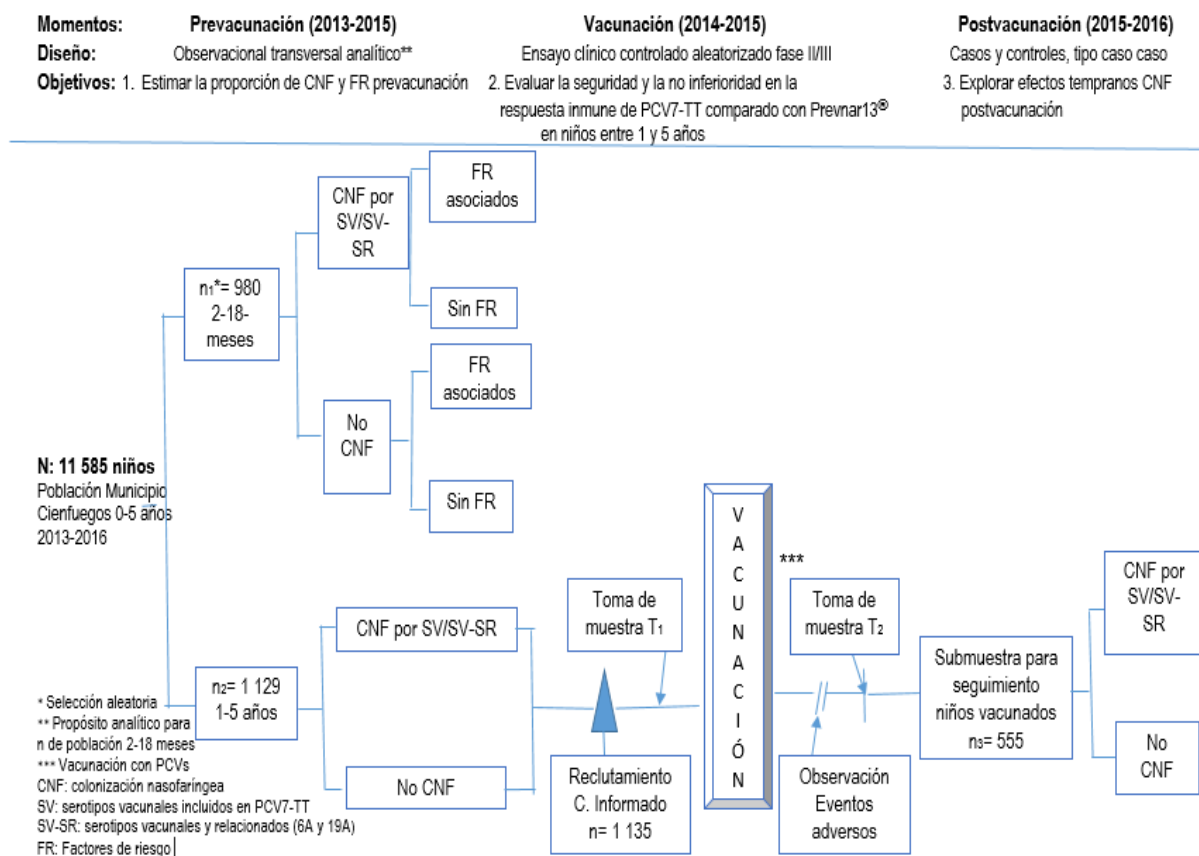


Figura 1. Diagrama de flujo del diseño general del estudio

2.2 Técnicas y procedimientos

2.2.1 Estudios sobre colonización nasofaríngea previos a la vacunación antineumocócica

Fueron conducidas dos encuestas transversales de colonización nasofaríngea entre el 2013 y el 2015, en las ocho áreas de salud del municipio Cienfuegos (Anexo 1).

Se estudiaron dos grupos poblacionales: niños de 2 a 18 meses (2013) y preescolares de 1 a 5 años de edad institucionalizados en círculos infantiles (2014-2015).

2.2.1.1 Prevalencia de colonización nasofaríngea prevacunación en el grupo de 2 a 18 meses

Se realizó un estudio observacional transversal de propósito analítico, en los niños de 2 a 18 meses de edad, en las ocho áreas del municipio de Cienfuegos, en el período comprendido entre octubre y diciembre de 2013.

Todos los sujetos entre 2 y 18 meses, de las ocho áreas de salud que cumplían los criterios de inclusión (edad y consentimiento informado firmado), se consideraron elegibles y se seleccionaron de forma aleatoria para su participación.

Se excluyeron del estudio aquellos sujetos con defectos anatómicos que impidiera la realización del exudado nasofaríngeo, trastornos hematológicos referido por los padres, uso de tratamiento antibiótico en los siete días previos a la toma de muestra y el antecedente de vacunación antineumocócica.

A través de la entrevista a los padres fueron exploradas variables demográficas (edad, sexo, área geográfica y área de salud); factores de riesgo individuales (tipo de cuidado diurno, lactancia materna exclusiva, hospitalizaciones e infecciones respiratorias previas) y factores del hogar (compartir la habitación, exposición al humo del cigarro y convivientes), (Anexo 1). La entrevista fue conducida por los responsables de investigación de cada área debidamente entrenados por el investigador principal.

La recolección de la muestra de exudado nasofaríngeo fue realizada por licenciados en microbiología previamente capacitados. Se utilizaron hisopos estériles, flexibles de nylon flocado (COPAN, Italia). Los procedimientos de conservación, transporte de muestra, aislamiento, identificación y serotipificación fueron conducidos por el Laboratorio de Inmunología del IFV, siguiendo las recomendaciones de la OMS, año 2013 ⁽⁶⁰⁾. El control de calidad de la serotipificación se realizó en el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” de Cuba.

Toda esta información fue compilada en un modelo de recogida de datos diseñado al efecto. Los datos individuales fueron recolectados en una base de datos, se utilizó Microsoft Access versión 2007. La prevalencia de colonización nasofaríngea fue estimada para serotipos vacunales (SV), serotipos relacionados (SR), serotipos no vacunales (SNV) por edad específica y estratos de edad. Se estimaron las diferencias y la significación estadística mediante la prueba de chi cuadrado, con un nivel de significación de 0,05. Para evaluar los determinantes de la colonización nasofaríngea (se usaron tasas de prevalencia como estimador

de riesgo) se realizó un análisis bivariado y a través de la regresión logística se hizo el análisis multivariado. Para el análisis estadístico se utilizó el software R (61).

2.2.1.2 Proporción de colonización nasofaríngea prevacunación en el grupo de preescolares de 1 a 5 años institucionalizados en círculos infantiles

Se realizó un estudio observacional de corte transversal en niños de 1 a 5 años de edad, de las ocho áreas de salud del municipio Cienfuegos, en el período comprendido entre junio del 2014 a marzo del 2015.

Los sujetos incluidos en este estudio fueron los niños que formaron parte del ensayo clínico fase II/III para evaluar la seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano. La toma de muestra se obtuvo justo antes de administrar las vacunas antineumocócicas (estudio o control). Se utilizó un muestreo no probabilístico (voluntariedad) en la selección de los participantes.

Los criterios de inclusión y exclusión, el procedimiento para la toma de exudado nasofaríngeo (ENF) y procesamiento de muestra fue el mismo para los dos grupos de estudio.

A través de una entrevista individual a los padres, mediante un modelo de recolección de la información previamente elaborado, fueron registrados los datos de identificación del niño (nombre y apellidos, edad, sexo, área de salud) y de la muestra de exudado nasofaríngeo tomada. Los registros se incluyeron en una base de datos utilizando Microsoft Access versión 2007.

Se estimó la proporción de colonización nasofaríngea global y por serotipos. Se describieron las proporciones de serotipos vacunales, los relacionados con la

vacuna y los serotipos no vacunales por grupo de edad, el grupo de 12 a 23 meses (n= 560) y de 2 a 5 años (n=569). El análisis estadístico se realizó con el software R, a través del cual se estimaron las diferencias de significación estadística mediante la prueba de chi cuadrado con un nivel de significación de 0,05.

2.2.2 Evaluación de la seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano conjugado heptavalente contra el neumococo

Se condujo un estudio experimental tipo ensayo clínico fase II/III, aleatorizado, controlado y doble ciego para evaluar la seguridad y la respuesta inmune del candidato vacunal cubano PCV7-TT comparado con la vacuna comercial Prevnar13®, en niños de 1 a 5 años en el municipio de Cienfuegos. El período de estudio fue de junio 2014 a junio del 2015 (Figura 2).

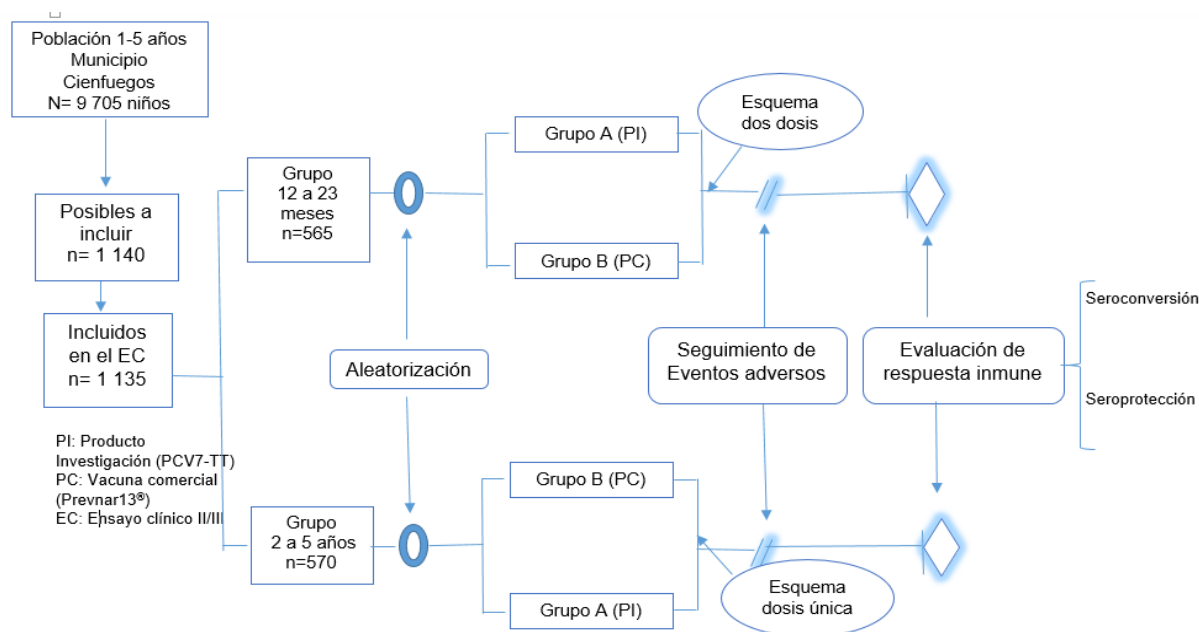


Figura 2. Diseño del estudio experimental (ensayo clínico controlado, aleatorizado, fase II/III), después de la inclusión

Todos los niños del municipio de Cienfuegos que cumplían los criterios de inclusión (edad, consentimiento informado firmado, eutróficos) fueron considerados elegibles.

Se excluyeron los que presentaron enfermedades infecciosas en el momento de la aplicación de la vacuna o en los siete días previos a la administración de la misma, con malformaciones congénitas mayores o crónicas descompensadas, con tratamiento inmunosupresor un mes previo, con enfermedades o reacciones alérgicas severas, con antecedentes de vacunación contra neumococo o el uso de cualquier producto de investigación en los 30 días previos al estudio.

El universo de niños considerados entre 1 y 5 años en el municipio de Cienfuegos fue de 9 705 sujetos. Para el cálculo del tamaño muestral se tuvo en cuenta la necesidad de demostrar la no inferioridad con un límite de 10% de la eficacia protectora del candidato vacunal cubano con respecto a la vacuna comercial con una potencia del 80% y una confiabilidad del 95%. Además, teniendo en cuenta que se trata de una población infantil, se consideró un 30% de pérdidas, para un total de 1 140 sujetos posibles a incluir en el estudio (grupo 12 a 23 meses: 570 y 2 a 5 años: 570).

Con los sujetos incluidos, por cada grupo de edad, se conformaron dos grupos de tratamiento que recibieron vacuna estudio (Grupo Estudio) y vacuna comercial (Grupo Control).

Los niños se asignaron aleatoriamente a cada uno de los grupos de tratamiento. La lista aleatoria se confeccionó con el empleo del lenguaje S, implementación

R, versión 3.1.2 o posteriores ⁽⁶¹⁾. Se consideró una proporción 1:1 (estudio/control) para la conformación de los grupos.

En el grupo de edad de 2 a 5 años se aplicó una dosis y en los niños de 12 a 23 meses dos dosis con un intervalo de ocho semanas, como recomienda la OMS ⁽⁴²⁾. La dosis aplicada fue de 0.5 ml, vía intramuscular, en el deltoides izquierdo para ambas vacunas (estudio y control).

Para asegurar el doble ciego, teniendo en cuenta que la presentación de las vacunas era diferente, se empleó un sistema de barreras donde la enfermera vacunadora tenía acceso al brazo del niño, pero no veía al niño.

Para evaluar la seguridad los sujetos fueron sometidos a una vigilancia estricta en los vacunatorios por los investigadores clínicos y se registraron los eventos adversos tras la administración de cada dosis de la vacuna. Se programaron las consultas de seguimiento hasta cumplimentar los 30 días posteriores a cada vacunación (primera hora; 1, 2, 3, 7 y 30 días). Se registraron todos los eventos adversos solicitados o esperados (locales y sistémicos) y los no solicitados (no esperados por la vacunación).

Los eventos adversos solicitados locales (sitio de la inyección) evaluados fueron: dolor, induración, eritema, inflamación o infiltración, aumento de la temperatura local (calor) e impotencia funcional. Los solicitados sistémicos evaluados fueron: fiebre (considerada temperatura mayor de 38 °C), febrícula (temperatura de 37°C a 37,9 °C), vómitos, cefalea, anafilaxia, hipotonía hiporresponsiva, convulsión, irritabilidad y trastornos del sueño.

Para evaluar la respuesta inmune, se tomaron muestras de sangre antes de la vacunación y a los 30 días después de completar el esquema correspondiente (Figura 1).

Se determinó la concentración de los anticuerpos generados para los siete serotipos comunes de ambas vacunas por método de ELISA. Se exploró la actividad Opcionofagocítica (OPA) al 17% de la muestra total en el Laboratorio de Referencia de la OMS para el diagnóstico de neumococo del Instituto de Salud Infantil de Londres. Debido a que solo fue permitida la evaluación a un subset de la muestra, se calculó un tamaño muestral para cada estrato (grupo de edades), por muestreo aleatorio simple.

La distribución porcentual fue de 15 % para los niños de 2 a 5 años y 20 % para los niños de 12 a 23 meses. Debido a que no se cuenta con valores subrogados de protección para la edad de 2 a 5 años, la OMS recomienda realizar comparaciones concurrentes head to head entre el grupo estudio y el grupo control, para evaluar los criterios de no inferioridad ⁽⁴²⁾. Por otra parte, los valores subrogados para los niños de 12 a 23 meses si están descritos y establecen la funcionabilidad de la vacuna.

El criterio de no inferioridad para la proporción de niños con títulos protectores pre y postvacunación por ELISA fue fijado, cuando el límite inferior del intervalo de confianza (IC: 95%) para la diferencia entre las vacunas (PCV7-TT y Prevnar 13[®]), estuviera en el rango $> -10\% \leq 10\%$.

Se consideró seroprotección si se alcanzó títulos de anticuerpos anti-polisacáridos para cada serotipo iguales o mayores que 0,35 µg/ml y valores de

índice opsonofagocítico igual o mayor que 1/8, para el caso de los sujetos incluidos en el grupo de 12 a 23 meses. Se consideró seroconversión si existió un incremento de dos veces la concentración de los títulos de anticuerpos con respecto a los valores prevacunación.

La evaluación media geométrica de la concentración de anticuerpos antipolisacáridos para cada serotipo fue desde valores no cuantificables (0,01 µg/ml) hasta la concentración máxima cuantificada por el método. Por su parte, la media geométrica del título opsonofagocítico para cada serotipo fue de 1/8 hasta la máxima dilución del suero que causa un 50% de la muerte bacteriana.

Además, se evaluaron las respuestas inmunológicas contra los serotipos 6A y 19A (serotipos relacionados), para analizar la posible protección cruzada inducida por los serotipos 6B y 19F, respectivamente.

En el análisis estadístico se calculó la proporción de sujetos con al menos un evento adverso solicitado (local o sistémico) o no. Se calculó la incidencia de cada evento adverso ocurrido durante el período de estudio, y se evaluó además la relación de causalidad con la vacuna.

Se calculó la concentración media geométrica de los títulos de anticuerpos contra cada polisacárido capsular con intervalos de confianza (IC 95%).

2.2.3 Evaluación de los cambios en la colonización nasofaríngea asociados a la administración de PCVs

Un año después de la vacunación se condujo un estudio de seguimiento con un diseño casos y controles tipo caso-caso (case crossover) anidado en el estudio experimental y donde cada individuo actuó como su propio control; con el objetivo

de explorar los cambios en la colonización nasofaríngea. La toma de muestra de ENF se realizó entre noviembre de 2015 y abril de 2016.

El universo de estudio lo constituyó los 1 135 niños vacunados en el ensayo clínico fase II/III. Se siguió un muestreo probabilístico, tipo aleatorio simple y se calculó una submuestra que representó el 50% del total de vacunados, con una precisión del 5%, nivel de significación del 95% y un estimado de pérdidas de alrededor del 20%.

Para este estudio se definió:

- Período de control o no vacunados (antes o no exposición a la vacunación): Niños entre 1 y 5 años, de ambos sexos, participantes en la encuesta de colonización, a quienes se le tomó exudado nasofaríngeo previo a la vacunación.
- Período de exposición o vacunados (después o exposición a la vacunación): a todos los sujetos, de los grupos de edades descritos, que fueron seleccionados en la encuesta de colonización prevacunación y se vacunaron con PCVs.

Se elaboraron dos listas de aleatorización, una denominada lista de selección y otra lista de reemplazo. Ambas listas fueron generadas mediante el lenguaje S, implementación R, versión 3.1.2 o posteriores ⁽⁶¹⁾.

Si un niño vacunado seleccionado aleatoriamente se trasladó de residencia o no cumplió con los criterios para la toma de muestra (salida del estudio), se procedió a su reemplazo siguiendo el criterio de seleccionar el primer niño no incluido en la lista aleatoria 1 (lista de selección) y contenido en la lista aleatoria 2 (lista de

reemplazo). Los criterios para reemplazo fueron: a) niño vacunado no existente al momento de la visita (ej. dirección incorrecta, mudanza), b) padres/tutores de niños vacunados con facilidades de horario para entrevista no factible (ejemplo: después de las 5:00 p.m.) y c) padre/tutor de niño vacunado ausente al momento de la visita de campo y después de dos nuevas visitas sin éxito.

Se excluyeron del estudio los niños que recibieron tratamiento antibiótico siete días previos a la toma de muestra o que los padres no firmaron el consentimiento informado.

Se aplicó una encuesta en formato impreso (Anexo 2) a los padres o tutores legales para determinar las características sociodemográficas y los factores asociados a los cambios en la colonización nasofaríngea en los niños vacunados (enfermedades respiratorias asociadas a la infección por neumococo, hospitalización previa en el último año, uso de antibiótico, asistencia a círculos infantiles o guarderías). Los encuestadores se capacitaron por la autora de la investigación y al final de cada día, todos los cuestionarios y registros fueron revisados detalladamente con el fin de asegurar la calidad de la información e identificar errores en el registro de información.

La captura de los datos del cuestionario se realizó por dos capturistas pertenecientes al Instituto Finlay de Vacunas. Se utilizó un procedimiento de doble entrada de datos para minimizar errores, siempre se empleó la misma herramienta (módulo ENTER de EpiInfo 7 para Windows).

A cada sujeto se le realizó una única toma de muestra de exudado nasofaríngeo. Se utilizó el mismo procedimiento para la obtención, almacenamiento, transporte, aislamiento de las muestras y serotipificación.

El plan estadístico realizado para la interpretación de los resultados se basó en la utilización de medidas de frecuencia absoluta y relativa. Se utilizó la razón de prevalencia como medida de asociación. Se calcularon los intervalos de confianza al 95% para cada proporción y el nivel de significación de los resultados fue para una $p \leq 0.05$.

En el análisis univariado se estimó la proporción de cambios en la colonización nasofaríngea (global, por serotipos vacunales, relacionados y no vacunales) en la submuestra de niños vacunados seleccionados. Se compararon las proporciones colonización antes y después de administrada la vacunación, estratificado por los grupos de edad (12 a 23 meses; de 2 a 5 años).

En el análisis bivariado, se describieron los factores de riesgo seleccionados en niños que eliminaron el estado de portador postvacunación (cambio de CNF + a CNF-). De igual forma se realizó con los que no adquieren la CNF (cambio de CNF – a CNF-).

En este mismo nivel analítico, se estimó la asociación de factores de riesgo para la eliminación de la CNF y la no adquisición de la CNF por serotipos vacunales (SV) y por serotipos vacunales más relacionados (SV + SR) en individuos vacunados.

Se realizaron las estimaciones de la fuerza de asociación entre la vacunación con PCVs y la colonización nasofaríngea en dos subgrupos: cuando la CNF fue por

serotipos vacunales (SV) y cuando fue por serotipos vacunales más serotipos relacionados (SV+SR). En todos los casos se obtuvo la OR-P, con sus intervalos de confianza al 95%, ajustado por grupos de edad considerados en el estudio. Para la estimación del efecto poblacional se utilizaron como medidas de impacto la fracción prevenible y la fracción prevenida.

2.3 Aspectos éticos

La investigación cumplió los principios éticos para la investigación médica en seres humanos, establecidos en la Declaración de Helsinki en la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013 ⁽⁶²⁾. Se cumplió con el deber médico de velar por el bienestar de cada sujeto, respetar los derechos de los niños incluidos en la investigación y se cumplieron los principios éticos de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia.

Los protocolos de cada estudio fueron aprobados por el comité de ética de la investigación científica (CEI) del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK) y de la Facultad de Ciencias Médicas “Dr. Raúl Dorticós Torrado” de Cienfuegos. Estos comités fueron informados permanentemente sobre la marcha de la investigación. El dictamen otorgado por los CEI de las instituciones correspondientes, conjuntamente con el Protocolo del estudio y el Manual del Investigador, se entregaron al centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) para su revisión y aprobación. Una vez obtenida la aprobación por el CECMED se procedió a iniciar el estudio.

Toda la información individual relacionada con los sujetos quedó debidamente custodiada de forma tal que se garantizó la absoluta confidencialidad de los datos personales de los sujetos.

En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado firmado por los padres o tutores de los niños incluidos en los estudios, para la realización de las encuestas y procedimientos médicos.

El plan de difusión de los resultados fue acordado entre los investigadores locales y de los Institutos Finlay e IPK, sin que existieran conflictos de intereses.

Cada uno de los estudios es presentado en correspondencia con las normas internacionales estandarizadas para reportar estudios observacionales (STROBE) y experimentales (CONSORT).

2.4 Limitaciones y fortalezas de la investigación

Una limitación del estudio de colonización nasofaríngea en niños no vacunados fue la recolección de los datos retrospectivos sobre los factores de riesgo como hospitalización, infecciones respiratorias y el uso de antibióticos en los últimos dos meses (sesgo de memoria). El hecho de que no existen datos previos en Cuba de la prevalencia de colonización nasofaríngea en niños no vacunados con PCVs limita las comparaciones.

La realización de este estudio en un municipio no es representativo de la población infantil sana en el país, pero sí de la provincia. Adicionalmente, si se tiene en cuenta que no se ha introducido en Cuba la vacunación antineumocócica (población naive), muy probablemente la historia de circulación poblacional de serotipos no es significativamente diferente.

El estudio de los cambios en la CNF asociados a la vacunación con PCVs se realizó un año después de la exposición a la vacuna, por lo que los resultados se consideran de corto plazo. Aún no puede constatarse la reemergencia de nuevos serotipos, se necesitan al menos cinco años para establecer modelos de cambio en la CNF postvacunación asociados a la vacunación antineumocócica.

El diseño analítico elegido para el estudio de seguimiento tiene como limitación la ausencia de un grupo de comparación concurrente; pues el sujeto de estudio actúa como su propio control en dos cortes transversales independientes. La evaluación del cambio de la CNF un año después de la vacunación limita el conocimiento sobre la dinámica de exposición/eliminación/adquisición de la colonización nasofaríngea.

No obstante, al considerar la selección aleatoria de la submuestra y la rigurosidad en la medición del estado de exposición e implementación de la vacunación a través del ensayo clínico controlado, sugiere que no exista una subestimación de la eficacia de la intervención entre los expuestos a la vacunación.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Estudios de colonización nasofaríngea previos a la administración de la vacunación antineumocócica

3.1.1 Prevalencia de colonización nasofaríngea en niños de 2 a 18 meses de edad

De los 1 050 niños entre 2 y 18 meses de edad enrolados, 984 (93,71%) cumplieron los criterios de inclusión. Un total de 980 muestras (99,59%) fueron procesadas y el 22% (212/980) se encontraron positivas a *Streptococcus pneumoniae*, como se muestra en la Figura 3.

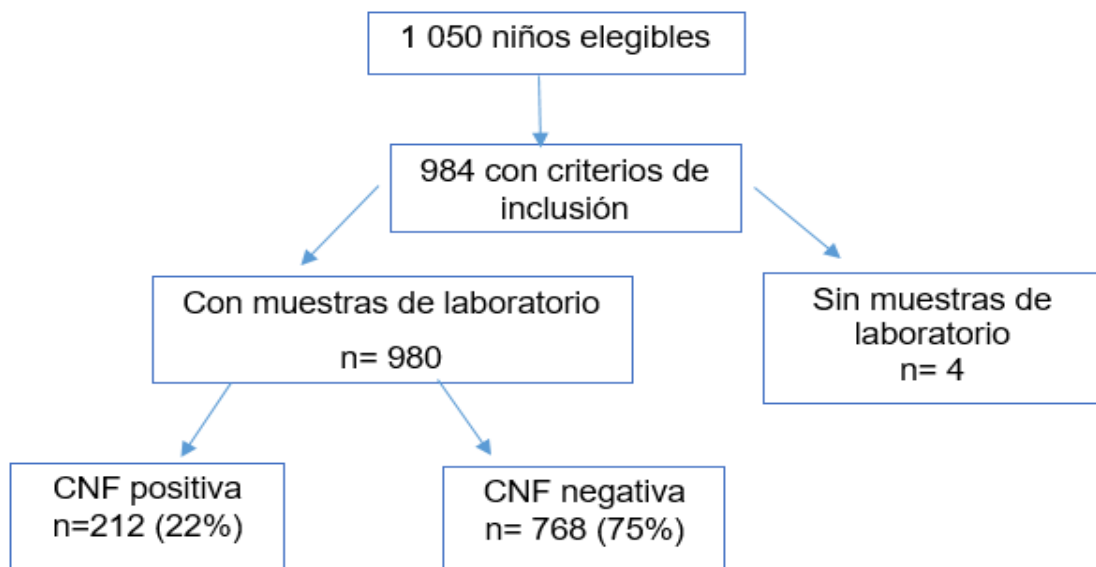


Figura 3. Diagrama de flujo del estudio de colonización nasofaríngea previo a la vacunación antineumocócica en niños de 2 a 18 meses

Las características demográficas de la población estudiada, distribuida en colonizados y no colonizados, se describe en la Tabla 1. El 87,2% de los niños residen en áreas urbanas. Las zonas periurbanas y rurales pertenecen a las áreas de salud V y VIII. No existió diferencias significativas en la distribución de la muestra con respecto a la edad ($p=0,560$), sexo ($p=0,379$) y área geográfica de procedencia ($p=0,2714$), para ambos grupos.

Tabla 1. Características demográficas de los niños de 2 a 18 meses de edad. Cienfuegos, 2013

VARIABLES	Colonizados n=212 n (%)	No colonizados n=768 n (%)
Edad (meses)		
2 a 3	19 (8,96)	62 (8,07)
4 a 5	29 (13,68)	85 (11,07)
6 a 7	20 (9,43)	106 (13,80)
8 a 9	32 (15,09)	101 (13,15)
10 a 11	7 (3,30)	18 (2,34)
12	16 (7,55)	65 (8,46)
> 13	89 (41,98)	331 (43,10)
Sexo (masculino)	120 (56,60)	406 (52,86)
Área geográfica		
Urbana	181 (85,38)	674 (87,76)
Periurbana	13 (6,13)	31 (4,04)
Rural	18 (8,49)	63 (8,20)
Área salud		
I	45 (21,23)	116 (15,10)
II	14 (6,60)	84 (10,94)
III	32 (15,09)	111 (14,45)
IV	15 (7,08)	55 (7,16)
V	43 (20,28)	137 (17,84)
VI	19 (8,96)	69 (8,98)
VII	14 (6,60)	103 (13,41)
VIII	30 (14,15)	93 (12,11)

La prevalencia de colonización nasofaríngea por neumococo en los niños estudiados fue de un 22%. Los menores valores fueron detectados en los niños de seis meses (16%) y los más altos en los niños de 10 meses de edad (28%). Sin embargo, en los niños menores de seis meses la prevalencia fue mayor del 22% (Figura 4).

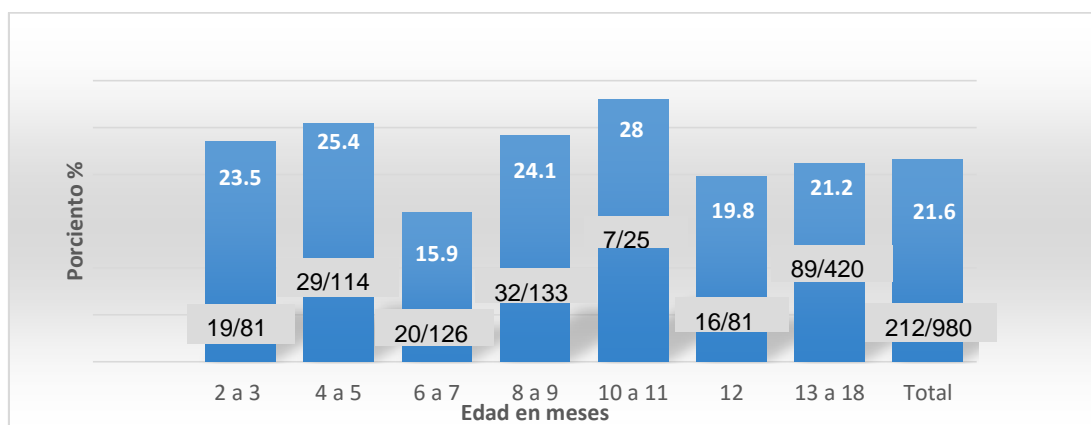


Figura 4: Prevalencia de la colonización nasofaríngea por neumococo según edad. Cienfuegos, 2013

Cercano al 60% de los serotipos aislados en las muestras de exudados nasofaríngeos (Figura 5), correspondió a los serotipos vacunales y relacionados (SV y SR).

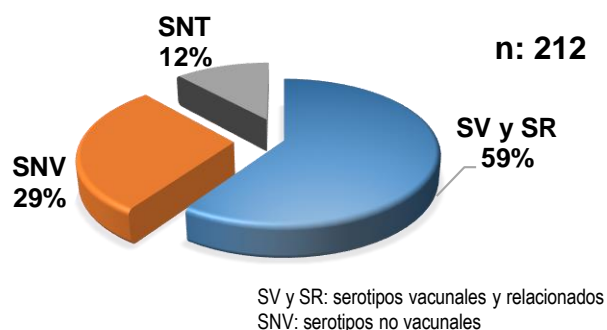


Figura 5. Prevalencia de los grupos de serotipos aislados en los exudados nasofaríngeos.

Al analizar la distribución de los serotipos específicos por grupos de edad (Tabla 2), se constata que de los 212 aislamientos de neumococo en la colonización nasofaríngea 49 (23,1%) fueron 6A, seguido del 23F (10,8%) y 6B (10,4%). En relación con los serotipos vacunales, el 23F resultó el más prevalente en los lactantes encontrándose en 19 niños para un 15,4%. Sin embargo, en los niños mayores de un año predominaron el 6B en 10 niños (11,2%) y el 19F en 7 sujetos (7,9%). Los serotipos no vacunales representaron el 28,8% del total de aislamientos. El serotipo 6A considerado relacionado con la vacuna, fue el más prevalente en todos los grupos de edades. No se aisló el serotipo 1 ni el 5. Ningún niño fue colonizado por más de un serotipo en su nasofaringe.

Tabla 2. Distribución proporcional de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* por estratos de edad, en niños colonizados entre 2 y 18 meses. Cienfuegos, 2013

Estrato de edad (meses)	Total (N)	CNF (n)	Serotipos vacunales (%)					SR (%)		SNV (%)	SNT (%)
			14	18C	6B	19F	23F	6A	19A		
< 6 meses	195	48	6,2	2,0	6,2	4,2	16,7	18,8	2,0	29,2	14,6
6 a 12	365	75	1,4	1,4	12	12	14,7	28	2,7	21,3	6,7
13 a 18	420	89	3,4	0,0	11,2	7,9	4,5	21,4	2,2	34,8	14,6
Total	980	212	3,3	0,9	10,4	8,5	10,8	23,1	2,4	28,8	11,8

SR: serotipos relacionados, SNV: serotipos no vacunales, SNT: serotipos no tipados

En relación a la proporción de serotipos vacunales más los relacionados (SV+SR) y los serotipos no vacunales (SNV) existió diferencia significativa ($p=0,01$) entre las áreas de salud, como se aprecia en la Figura 6. En general, los SV+SR fueron predominantes aislados en la mayoría de las áreas de salud en un rango desde

50% hasta un 80%. En las áreas periurbanas y rurales, pertenecientes a las áreas de salud V y VIII, la proporción de colonización por serotipos no vacunales fue mayor; representando un 42% y 40% respectivamente.

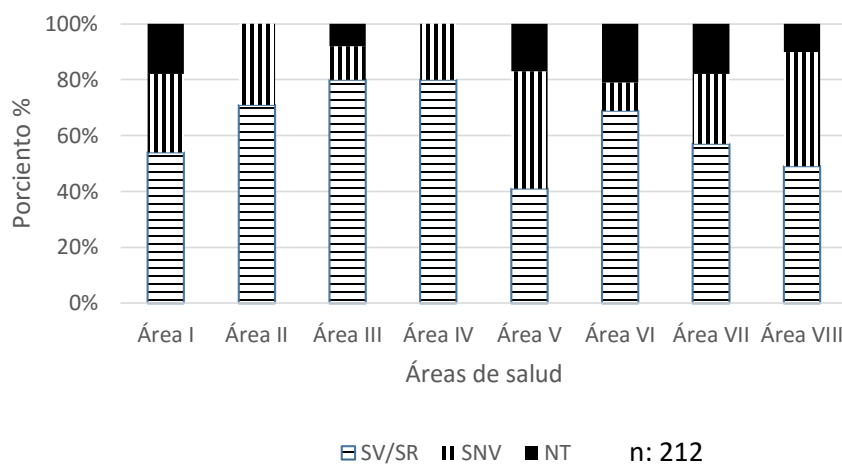


Figura 6. Distribución de los serotipos de neumococo por áreas de salud. Cienfuegos, 2013

El análisis bivariado de los factores de riesgo asociados a la colonización nasofaríngea en los niños de 2 a 18 meses (Tabla 3), mostró que la hospitalización previa, el antecedente de infecciones respiratorias agudas y la asistencia a guarderías o círculos infantiles fue asociado significativamente con la colonización nasofaríngea ($p = 0,001$; $p = 0,007$; $p = 0,006$ respectivamente). En relación con los factores de riesgo del hogar: compartir la cama con los padres ($p < 0,001$), convivir con mayores de 60 años ($p = 0,007$) y con niños menores de cinco años ($p < 0,001$), fueron factores de riesgo significativamente asociados con la colonización nasofaríngea por neumococo.

Tabla 3. Factores de riesgo individual y del hogar asociados a la colonización nasofaríngea en niños de 2 a 18 meses. Análisis bivariado.

Factores de riesgo	No colonizados	Colonizados	Total	p
	n=768 n (%)	n=212 n (%)	n=980 n (%)	
Factores de riesgo individuales				
Lactancia materna exclusiva hasta seis meses	652 (84,9)	188 (88,7)	840 (85,7)	0,200
Hospitalizaciones previas	83 (10,8)	42 (19,8)	125 (12,7)	0,001
Uso previo de antibiótico	166 (21,6)	53 (25,0)	219 (22,3)	0,340
Infecciones respiratorias previas *	554 (78,2)	174 (82,1)	728 (74,7)	0,007
Asistencia a guardería o círculos infantiles	31 (4,0)	19 (9,0)	50 (5,1)	0,007
Factores de riesgo del hogar				
Compartir la habitación con más de dos personas	761 (99,1)	212 (100)	973 (99,3)	0,350
Compartir la cama con los padres †	61 (8,0)	27 (12,7)	88 (9,0)	<0,001
Exposición al humo del cigarro ‡	328 (43,7)	99 (46,9)	427 (44,4)	0,433
Convivir con mayores de 65 años	193 (25,1)	34 (16,0)	227 (23,2)	0,007
Convivir con menores de cinco años	193 (25,1)	96 (45,3)	289 (29,5)	<0,001

*Seis sujetos no colonizados sin datos, † siete no colonizados sin datos, ‡ 17 no colonizados y un colonizado sin datos.

El análisis multivariado (Tabla 4) muestra que convivir con menores de cinco años (OR: 3,48; 95% IC: 1,82–2,51), el antecedente de infecciones respiratorias (OR

2,45; 95% IC: 1,03–1,57), las hospitalizaciones previas (OR 2,48; 95% IC: 1,05–1,62) y la asistencia a guarderías o círculos infantiles (OR 4,33; 95% IC: 1,26–2,36) fueron determinantes de la colonización nasofaríngea por neumococo.

Tabla 4. Factores determinantes de la colonización nasofaríngea por neumococo en niños de 2 a 18 meses. Análisis multivariado.

Determinantes de la colonización nasofaríngea	OR (95% IC)	p
Previa hospitalización	1,62 (1,05–2,48)	0,028
Infecciones respiratorias previas	1,57 (1,03–2,45)	0,039
Asistir a guardería o círculo infantil	2,36 (1,26–4,33)	0,006
Compartir la cama con los padres	1,60 (0,96–2,62)	0,067
Convivir con mayores de 60 años	0,58 (0,38–0,87)	0,010
Convivir con menores de cinco años	2,51 (1,82–3,48)	<0,001

Discusión

Streptococcus pneumoniae coloniza la nasofaringe como paso previo a la enfermedad neumocócica y puede iniciarse desde los primeros meses de la vida. Sin embargo, no siempre se puede documentar debido a las dificultades para su aislamiento en el laboratorio ⁽⁶³⁾.

El resultado encontrado de 25 (11,8%) aislamientos de neumococo no tipados es comparable con la prevalencia de colonización nasofaríngea por serotipos no tipados en diferentes regiones, en un rango desde 0% hasta 11% ⁽⁶⁴⁾. Se describen varios factores que pueden influir en estos resultados entre ellos la

calidad en la toma de muestra, las condiciones no estériles en el proceder, la calidad del antisuero para el serotipaje por la reacción de Quellung, la falta de respuesta como resultado de las diferentes siembras en las placas de agar y el error humano ⁽⁶⁴⁾.

Contar con datos de línea de base sobre la colonización nasofaríngea y de la incidencia de enfermedad neumocócica invasiva resulta crucial para medir el impacto de la vacunación con PCVs; permitiendo evaluar los cambios en la circulación de serotipos. Se describen más de 90 serotipos de neumococo, de ellos solo del 15% al 20%, son los responsables del 70% de la ENI en niños menores de cinco años ⁽²³⁾. La prevalencia de CNF es mayor en países en desarrollo, particularmente en menores de cinco años ⁽²⁸⁾.

La prevalencia global de CNF por neumococo en niños entre 2 y 18 meses antes de la vacunación en Cuba con PCVs está en el rango de reportes internacionales en Asia, África y América donde han encontrado una prevalencia de colonización entre un 11% y 90% ^(65, 66, 67).

La mayoría de los serotipos aislados en todos los grupos de edad pudiera ser cubierta por el candidato vacunal cubano PCV7-TT, a pesar de las diferencias encontradas entre las áreas de salud. En este caso, se espera la protección cruzada entre el serotipo 6B/6A y 19F/19A, por las evidencias aportadas en el ensayo clínico Fase I en niños preescolares realizado en Cuba ⁽⁴⁵⁾.

Estudios conducidos en varios países reportan diferencias entre las áreas rurales y urbanas para la colonización nasofaríngea por neumococo, donde han encontrado que residir en áreas rurales es un factor protector para la CNF ^(65, 66).

Sin embargo, no encontramos estudios que reporten las diferencias entre los serotipos vacunales y no vacunales detectados en áreas rurales y urbanas.

Está bien documentado que existen diferencias en la distribución de serotipos de neumococo en el mundo y que esta se encuentra influenciada por múltiples factores como la región geográfica, la edad, el uso de antibióticos, entre otras ⁽⁶³⁾.

Nuestros resultados son similares a los publicados por la literatura. En Gambia se reporta que los serotipos 6B (16%), 6A (13%) y 9V (7%) fueron encontrados en los niños menores de tres años. En Finlandia, los serotipos 6B (16%), 23F (14%), 19F (14%) y 6A (9%) eran los más prevalentes. En Estados Unidos los serotipos 6B, 14, 19F y 23F resultaron los más comunes ⁽¹⁵⁾.

En Asia, similares serotipos y serogrupos han sido encontrados entre los aislamientos nasofaríngeos en niños sanos. Por ejemplo, en la India, los serogrupos más frecuentes fueron 6, 14, 19, 15 y en Vietnam fueron 19, 23, 14, 6 y 18 ⁽¹⁷⁾.

En el 2001, la distribución de serogrupos en Indonesia se mostró diferente. Los más comunes fueron el 6 (25%) y el 23 (21%) seguidos por el 15 (8%), 33 (8%), 19 (6%), 12 (5%) y 3 (4%) ⁽⁶⁸⁾.

Está bien demostrado que los serotipos 1 y 5 producen ENI, pero es poco frecuente su aislamiento en las muestras de exudados nasofaríngeos. Se describe que colonizan la nasofaringe por poco tiempo, pero tienen una alta capacidad invasiva. En Gambia se describe que, a pesar de que los serotipos 1 y 5 son raramente aislados en la nasofaringe de los niños, resultan responsables de aproximadamente un tercio de todos los casos de ENI ⁽⁶⁹⁾. En contraste, los

serotipos 6A, 6B, 14, 19A y 19F son frecuentemente aislados en la ENI y también en la colonización nasofaríngea ⁽⁷⁰⁾.

En Cuba, los serotipos más frecuentes aislados de la ENI son el 14, 19A, 6A, 19F, 6B, 3 y 23F en niños menores de cinco años ⁽²¹⁾. Nuestros resultados de colonización nasofaríngea en niños no vacunados y la información disponible sobre la prevalencia de los serotipos en la ENI ⁽⁷¹⁾ sugieren que la introducción de la vacuna cubana PCV7-TT contribuirá a una reducción significativa en la morbilidad y mortalidad asociada al neumococo.

La asociación de las infecciones respiratorias y las hospitalizaciones con la prevalencia de colonización nasofaríngea se soporta en la teoría del incremento del riesgo, durante las infecciones virales ^(72, 73).

En la población saludable, los factores de riesgo pueden determinar la frecuencia de colonización nasofaríngea por neumococo. Se ha descrito como determinantes fundamentales individuales y del hogar la asistencia a círculos infantiles y convivir con niños menores de cinco años ^(11, 74, 75). En niños pequeños, la asistencia a guarderías, está asociado con un significativo incremento de la prevalencia de colonización ⁽⁷⁴⁾.

En un estudio de Holanda, el riesgo relativo de colonización nasofaríngea por neumococo en niños que asistían a guarderías fue 1,6 veces mayor comparado con niños atendidos en sus hogares ⁽⁷⁶⁾.

3.1.2 Proporción de colonización nasofaríngea en niños preescolares de 1 a 5 años de edad institucionalizados en círculos infantiles

De los 1 140 niños de 1 a 5 años captados, 1 135 fueron incluidos en el estudio. Un total de 1 129 muestras de exudado nasofaríngeo fueron procesadas (99,47%) y el 32,32% (365/1 129) resultaron positivas a *Streptococcus pneumoniae*, como se muestra en la Figura 7.

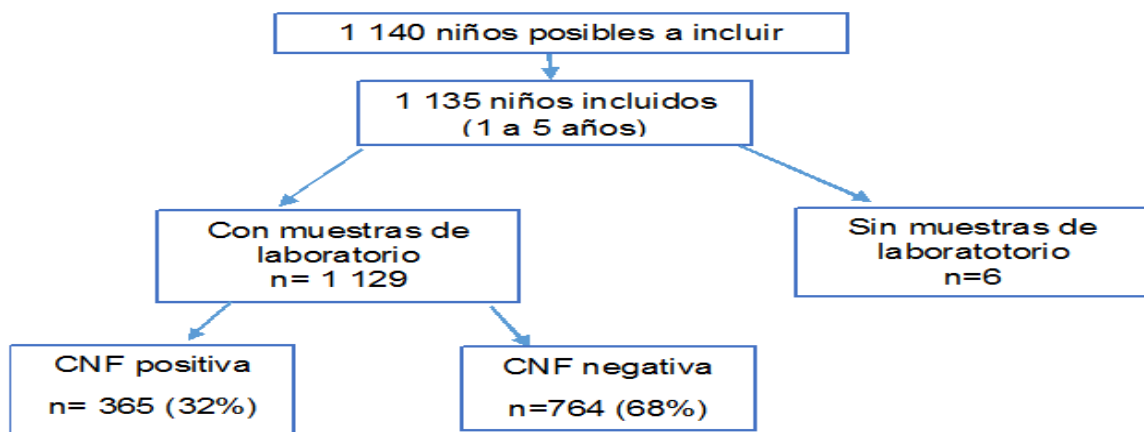


Figura 7: Diagrama de flujo del estudio de colonización nasofaríngea previa a la vacunación antineumocócica en niños de 1 a 5 años institucionalizados.

Las características demográficas de la población estudiada se describen en la Tabla 5. Más del 80% de los niños estudiados residían en las áreas de salud I, III y V del municipio de Cienfuegos, con predominio de los varones (54,7%).

Tabla 5. Características demográficas de los niños de 1 a 5 años no vacunados institucionalizados. Cienfuegos, 2014-15.

Variables		Población estudiada n=1 129	
		n	%
Edad	12 a 23 meses	560	49.6
	2 a 5 años	569	50.4
Sexo	Femenino	511	45.3
	Masculino	618	54.7
Área de Salud	I	278	24.6
	III	367	32.5
	V	311	27.5
	VI	50	4.4
	VII	18	1.6
	Otras	105	9.3

La proporción de colonización nasofaríngea global en los niños estudiados fue de un 32,3%. Los niños entre 2 y 5 años mostraron la prevalencia más alta (40,1%), (Figura 8).

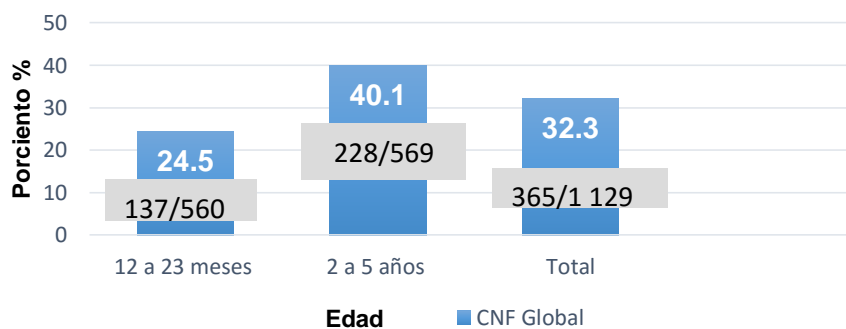


Figura 8. Proporción de colonización nasofaríngea global según grupos de edad

Del total de exudados nasofaríngeos positivos a neumococo (365/1 129), el 73% correspondió a los serotipos vacunales y relacionados (SV/SR). Los serotipos no vacunales representaron el 18% del total de aislamientos. Existieron 34 serotipos no tipados (9%), como se observa en la Figura 9.

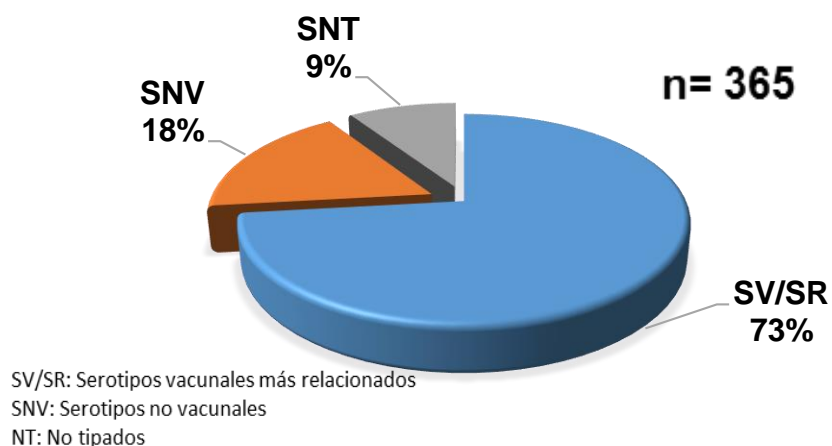


Figura 9. Proporción de colonización nasofaríngea por tipo de serotipos aislados en los exudados de niños, previo a la vacunación con PCVs.

La mayor proporción de colonización resultó en los niños entre 2 y 5 años de edad (40,1%), (Tabla 6). Sin embargo, para ambos grupos de edad predominaron los serotipos vacunales y los relacionados con la vacuna (6A y 19A).

Tabla 6. Distribucion proporcional de la colonización global y por tipo de serotipos de neumococo según grupos de edad previo a la vacunación

Serotipos	1 a 5 años n= 1 129	12 a 23 meses n=560	2 a 5 años n=569	p
	n (%)	n (%)	n (%)	
Global	365 (32,3)	137 (24,5)	228 (40,1)	<0,001
SV	176 (15,6)	67 (12)	109 (19,1)	0,001
SR	91 (8,1)	39 (7)	52 (9,1)	0,218
SNV	64 (5,7)	25 (4,5)	39 (6,8)	0,108
No tipados	34 (3,0)	6 (1,1)	28 (4,9)	<0,001

IC 95%

Cuando se analiza la distribución de los serotipos específicos por grupos de edad (Tabla 7), encontramos que de los 365 aislamientos de neumococo en la colonización nasofaríngea 68 (18,6%) fueron 19F, 62 (17,0%) 6A, 45 (12,3%) 6B, 34 (9,3%) 23F y 29 (8,0%) el 19A. En relación con los serotipos vacunales, el 19F fue el más prevalente para ambos grupos de edad, pero con un mayor porcentaje de aislamiento en los niños de 12 a 23 meses (22,6%). Por su parte, el 6B predominó en los niños de 2 a 5 años (13,6%). De los serotipos considerados relacionados con la vacuna, el serotipo 6A fue el más prevalente para ambos grupos: 12 a 23 meses (22,6%) y 2 a 5 años (13,6%). No se aislaron los serotipos 1 y 5. No se detectó colonización por más de un serotipo.

Tabla 7. Distribución de la colonización serotipo específica por estratos de edad previo a la vacunación. Cienfuegos, 2014-15

Estrato de edad	Total (N)	CNF (n)	Serotipos vacunales (%)					SR (%)		SNV (%)	SNT (%)
			14	18C	6B	19F	23F	6A	19A		
12 a 23 meses	560	137	7,3	0,0	10,2	22,6	8,8	22,6	5,8	18,3	4,4
2 a 5 años	569	228	6,6	1,8	13,6	16,2	9,6	13,6	9,2	17,1	12,3
Total	1129	365	6,9	1,1	12,3	18,6	9,3	17,0	8,0	17,5	9,3

CNF: Colonización nasofaríngea; SR: Serotipos relacionados; SNV: Serotipos no vacunales; SNT: Serotipos no tipados.

Discusión

La mayor proporción de colonización en niños de 1 a 5 años, confirma que el comportamiento epidemiológico para este grupo de edad en la población cubana no difiere de lo reportado en la literatura científica. Las publicaciones avalan que, aunque la nasofaringe de los niños es colonizada en el primer año de vida y la vacunación en los primeros meses resulta muy efectiva; entre los 2 y 5 años la prevalencia de colonización se incrementa significativamente ^(63, 77).

En un estudio realizado por Mameli y colaboradores, se reportó que en Finlandia la proporción de colonización nasofaríngea por neumococo, en niños de 2 a 24 meses se incrementa del 13% (en menores de seis meses), a un 43% en los niños mayores de 19 meses ⁽⁷⁸⁾.

Si tenemos en cuenta que la mayor proporción de serotipos aislados corresponden a serotipos vacunales incluidos en PCV7-TT y que la distribución por frecuencia de ellos no varía de un grupo de edad a otro, la reducción de la

circulación de los serotipos vacunales (19F, 6B, 23F, 14, 18C) permitiría reducir más del 50% de la carga de colonización y por tanto contribuir a la reducción de la morbilidad y mortalidad asociadas a la infección por esta bacteria.

Son varias las investigaciones que han demostrado que la reducción de la enfermedad neumocócica es atribuible a la disminución de la colonización nasofaríngea por serotipos de neumococo incluidos en las vacunas conjugadas antineumocócicas registradas (Synflorix[®], Pevnar13[®], Pevnar7[®]) (53, 79).

En Europa, se ha confirmado que los serotipos que circulaban, en los menores de cinco años, antes de la introducción de las vacunas conjugadas antineumocócicas, específicamente la Pevnar7[®], eran serotipos incluidos en ella (6B, 23F, 19F, 14 y 18C). Particularmente en España, el 60% de los aislamientos en las enfermedades neumocócicas correspondía a estos serotipos (80).

Por otra parte, en Corea se reporta que los serotipos 19F, 23F y 3 (serotipos vacunales) eran los responsables del 30% al 60% de la enfermedad neumocócica, previo a la introducción de las vacunas Pevnar7[®] y Pevnar13[®] (66).

En una investigación conducida en Colombia (81), demostraron que los serotipos más frecuentes en los aislamientos de exudados nasofaríngeos fueron 19F (10,2%), 6A (9,3%), 6B (4,9%), 14 (3,7%) y 23F (2,8%), en poblaciones no vacunadas con PCVs.

3.2 Evaluación de la seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano heptavalente contra el neumococo

De la población total de 1 a 5 años de Cienfuegos (N: 9 705 niños), fueron captados 1 140 niños, incluyéndose 1 135 niños en el ensayo clínico controlado, aleatorizado y doble ciego, Fase II/III, (Figura 10).

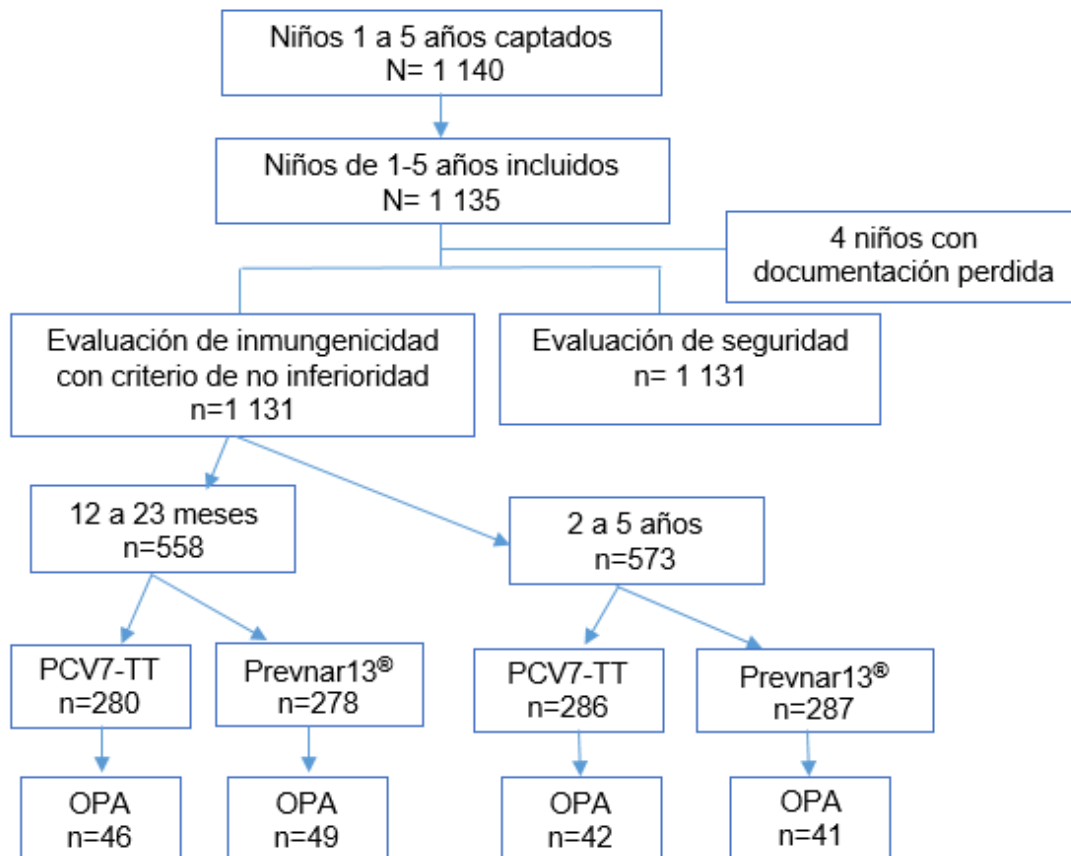


Figura 10. Diagrama de flujo del ensayo clínico para la evaluación de la seguridad y respuesta inmune de PCV7-TT

En los niños estudiados predominó el sexo masculino con un 54,64%, con una media de edad de 2,80 años, lo que confirma que se cumplió con el rango de edad establecido como criterio de inclusión en el estudio (Tabla 8).

Tabla 8: Distribución según sexo de niños vacunados en el ensayo clínico. Cienfuegos 2014-15.

Sexo	n	%	Edad Media
Femenino	513	45,36	2,79
Masculino	618	54,64	2,80
Total	1 131	100	2,80

Mínimo de edad: 1 año; Máximo de edad: 5 años.

El 33,4% (378/1 131) de los niños vacunados reportaron al menos un evento adverso (EA). Los eventos adversos solicitados locales y sistémicos fueron los que predominaron con un 13,88% y 13,97%, respectivamente. El porcentaje de niños con eventos no solicitados fue de 5,57%. Un mismo niño pudo presentar más de un evento adverso (Figura 11).

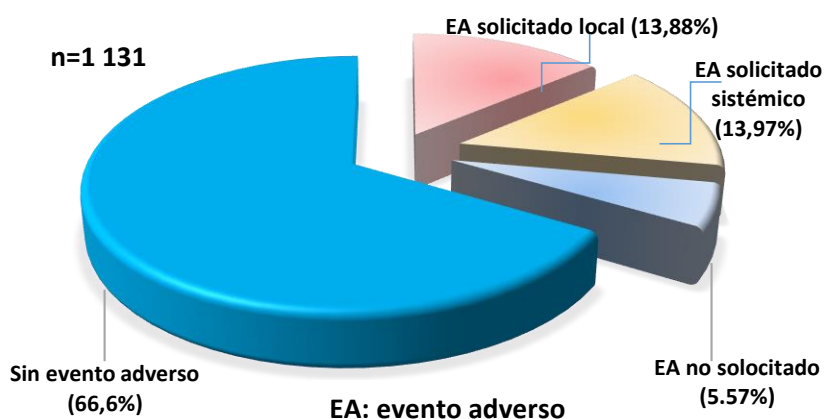


Figura 11. Distribución proporcional de los eventos adversos locales y sistémicos en niños vacunados con PCVs. Cienfuegos, 2014-15

Los eventos adversos solicitados locales aparecieron en el 13,8% (157/1 131) de los niños vacunados con PCVs. La induración (7,78%) y el eritema (7,16%) fueron los más frecuentemente detectados. El dolor (5,75%) y la inflamación (3,01%) en

el sitio de la vacunación, siguieron en orden de frecuencia. Todos los eventos adversos solicitados locales aparecieron en las primeras 72 horas y duraron menos de siete días (Figura12).

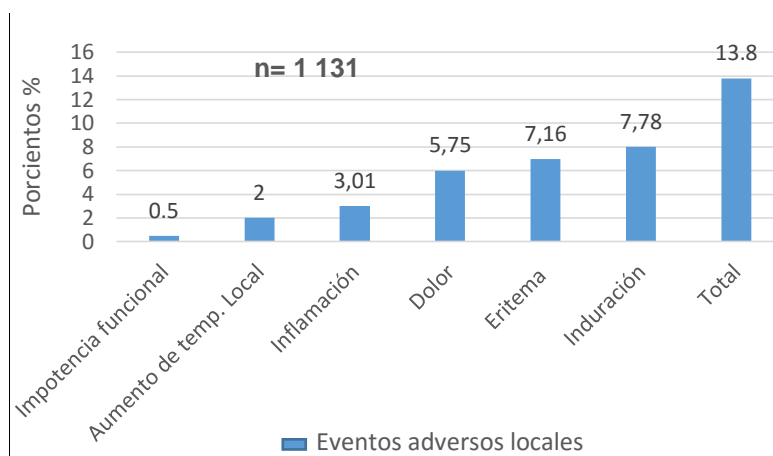


Figura 12. Distribución de los eventos adversos solicitados locales en niños vacunados con PCVs. Cienfuegos, 2014-15

El serotipo 14 para ambas vacunas alcanzó un 99% de seroprotección, seguido del 19F con comportamiento superior a un 97%. Los serotipos 6B, 18C y 23F lograron títulos protectores en más de un 90% de los niños, para la PCV7-TT y Prevnar13[®], (Tabla 9). La diferencia porcentual postvacunación demostró la no inferioridad del candidato vacunal cubano con la vacuna comercial Prevnar13[®].

Tabla 9. Proporción de niños con títulos protectores pre y post vacunación con PCVs según tipo de vacuna y serotipos vacunales. Cienfuegos 2014-2015.

Grupos de edad / Serotipos vacunales	PCV7-TT				Pprevnar13®.				Dif% postvacunación PCV7-TT–Pprevnar13®. (IC/95%)
	Pre		Post		Pre		Post		
	lgG≥0.35	lgG≥0.35	lgG≥0.35	lgG≥0.35	lgG≥0.35	lgG≥0.35	lgG≥0.35	lgG≥0.35	
	n	%	n	%	n	%	n	%	
12 a 23 meses	N=278		N=268		N=277		N=270		
1	62	22,3	245	91,4	43	15,5	261	96,7	-5,25 (-9,6 a -0,9)
5	37	13,3	224	83,6	36	13,0	248	91,8	-8,27 (-14,15 a -2,39)
6B	116	41,7	247	92,2	101	36,5	244	90,4	1,79 (-3,35 a 6,93)
14	202	72,7	267	99,6	193	69,7	268	99,3	0,37 (-1,26 a 1,99)
18C	33	11,9	261	97,2	24	8,7	266	98,5	-1,13 (-3,89 a 1,63)
19F	155	55,8	263	98,1	134	48,4	267	98,9	-0,75 (-3,17 a 1,66)
23F	94	33,8	260	97,0	75	27,1	244	90,4	6,64 (2,21 a 11,08)
2 a 5 años	N=285		N=285		N=286		N=286		
1	89	31,2	233	81,7	90	31,5	260	90,9	-9,15 (-15,09 a -3,22)
5	62	21,7	173	60,7	78	27,3	218	76,2	-15,52 (-23,39 a -7,66)
6B	202	70,0	262	91,9	209	73,1	267	93,4	-1,43 (-6,06 a 3,2)
14	277	97,2	285	100	278	97,2	285	99,6	0,35 (-0,68 a 1,38)
18C	67	23,5	271	95,2	67	23,4	276	96,5	-1,42 (-5,06 a 2,23)
19F	236	82,8	277	97,2	240	83,9	285	99,6	-2,46 (-4,84 a -0,07)
23F	185	64,9	266	93,3	182	63,6	259	90,6	2,77 (-2,03 a 7,58)

Dif%: Diferencia porcentual entre el porcentaje postvacunación entre ambas vacunas. Criterio de no inferioridad encontrado cuando el límite inferior del IC (95%) para la diferencia entre las vacunas (PCV7-TT y Pprevnar13®.) en el rango $> -10\% \leq 10\%$.

Como se puede apreciar en la tabla 10, también se detectó un incremento de los títulos protectores contra los serotipos relacionados (6A y 19A) en ambas vacunas; a pesar que estos serotipos no están contenidos en la PCV7-TT. En relación al serotipo 6A puede observarse que la proporción de niños con $IgG \geq 0.35 \mu g/ml$ postvacunación frente a este serotipo, tiene un comportamiento similar en ambos grupos de vacunados, donde alcanzan entre un 50% y un 68% para los dos grupos de edades.

Por su parte, los títulos protectores postvacunación alcanzados contra el serotipo 19A para ambas edades y vacunas se encontró en el rango entre 78% a 97%. Datos estos con significación estadística para la comparación post ELISA entre vacunas y los títulos pre y postvacunación dentro de cada uno ($p < 0,01$).

Tabla 10: Proporción de niños con títulos protectores pre y post vacunación con PCVs según tipo de vacuna y serotipos relacionados. Cienfuegos 2014-2015.

Grupos / serotipos relacionados	PCV7-TT						Prevnar13®					
	Pre $IgG \geq 0.35$			Post $IgG \geq 0.35$			Pre $IgG \geq 0.35$			Post $IgG \geq 0.35$		
	N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
12 a 23 meses												
6A	278	37	13,3	268	140	52,2	277	36	13,0	270	182	67,4
19A	278	141	50,7	268	210	78,4	277	127	45,8	270	263	97,4
2 a 5 años												
6A	285	67	23,5	285	144	50,5	286	81	28,3	286	195	68,2
19A	285	223	78,2	285	263	92,3	286	226	79,0	286	278	97,2

$p < 0, 01$; Pre IgG: anticuerpos prevacunación; Post IgG: anticuerpos postvacunación

Todos los serotipos vacunales fueron capaces de inducir un incremento de la concentración media geométrica de anticuerpos antipolisacáridos (IgG CMG por ELISA) después de completar el esquema de dosis correspondiente a cada grupo de edad, con un comportamiento similar para ambas vacunas (Tabla 11). Se

demostró la no inferioridad entre las PCVs utilizadas, pues todos los serotipos mostraron una proporción de concentración media geométrica postvacunación mayor de 0,5 (límite fijado en el protocolo del estudio).

Tabla 11: Proporción de niños con concentración media geométrica de anticuerpos IgG pre y postvacunación según vacunas y serotipos vacunales.

Edad/ SV	PCV7-TT		Pevnar13®		CMG post IC 95% (Min-Max)
	Pre IgG CMG (Min-Max)	Post IgG CMG (Min-Max)	Pre IgG CMG (Min-Max)	Post IgG CMG (Min-Max)	
12 a 23 meses					
1	0,2 (<0,15-5,34)	1,455 (<0,15-19,53)	0,16 (<0,15-4,04)	2,08 (<0,15-64,44)	0,70 (0,59-0,82)
5	0,141 (<0,15-5,45)	0,957 (<0,15-32,377)	0,131 (<0,15 3,54)	1,336 (<0,15 24,62)	0,72 (0,6-0,85)
6B	0,305 (<0,15-6,94)	1,837 (<0,15-65,80)	0,27 (<0,15-51,87)	1,622 (<0,15-55,00)	1,13 (0,92-1,38)
14	0,658 (<0,15-29,2)	10,154 (0,225-74,473)	0,536 (<0,15-24,56)	5,811 (0,206-71,54)	1,75 (1,48-2,06)
18C	0,129 (<0,15-10,9)	3,661 (<0,15-43,383)	0,107 (<0,15-6,081)	2,923 (<0,15-36,34)	1,25 (1,07-1,46)
19F	0,414 (<0,15-24,6)	2,387 (0,225-23,224)	0,36 (<0,15-12,60)	2,457 (0,208-41,19)	0,97 (0,82-1,14)
23F	0,26 (<0,15 29,8)	2,452 (<0,15-41,056)	0,21 (<0,15-13,69)	1,322 (<0,15-15,66)	1,85 (1,55-2,21)
2 a 5 años					
1	0,207 (<0,15-2,33)	0,848 (<0,15-15,338)	0,242 (<0,15-5,336)	1,177 (<0,15-36,63)	0,72 (0,62-0,84)
5	0,187 (<0,15-2,27)	0,446 (<0,15-7,034)	0,203 (<0,15-2,64)	0,717 (<0,15-14,55)	0,62 (0,53-0,73)
6B	0,66 (<0,15-12,3)	1,745 (<0,15-48,753)	0,689 (<0,15-22,05)	1,97 (0,161-128,5)	0,89 (0,72-1,08)
14	1,774 (<0,15-122)	8,615 (0,523-278,45)	1,903 (0,179-40,89)	6,539 (0,27-159,9)	1,32 (1,08-1,61)
18C	0,189 (<0,15-8,16)	1,745 (<0,15-50,52)	0,197 (<0,15-8,501)	2,602 (<0,15-74,55)	0,67 (0,57-0,79)
19F	0,9 (<0,15-15,9)	2,311 (<0,15-50,853)	0,941 (<0,15-13,16)	2,953 (0,341-56,37)	0,78 (0,65-0,93)
23F	0,602 (<0,15-15,7)	1,663 (<0,15-43,457)	0,614 (<0,15-11,33)	1,733 (<0,15-38,80)	0,96 (0,80-1,15)

CMG post: Concentración media geométrica de anticuerpos postvacunación. Criterio de no inferioridad la proporción de CMG >0,5 (PCV7-TT/Pevnar13). SV: Serotipos vacunales.

En el análisis de la actividad opsonofagocítica para los serotipos vacunales (Tabla 12), se constata que el 100% de los niños de 12 a 23 meses presentaron títulos de OPA \geq 1:8 para el serotipo 14 en ambas vacunas y al menos el 86% de los niños vacunados alcanzó dichos niveles para los serotipos 5, 6B, 18C, 19F y 23F. Para el serotipo 1 se encontraron títulos protectores en menos del 50%, tanto para PCV7-TT como para Prevnar13[®].

En el grupo de 2 a 5 años, la proporción de niños con títulos protectores por OPA resultaron inferiores de manera general comparado con menores de 2 años; particularmente frente a los serotipos 1 y 18C.

Tabla 12: Proporción de niños con títulos de OPA \geq 1:8 para los serotipos vacunales según grupos de edad.

Grupos de edad/ SV	PCV7-TT OPA \geq 1:8					Prevnar13 [®] OPA \geq 1:8				
	N	n	%	Min	Max	N	n	%	Min	Max
12-23 meses										
1	40	18	45,0	30,7	60,2	42	14	33,3	21,0	48,5
5	40	37	92,5	80,1	97,4	43	41	95,4	84,5	98,7
6B	45	39	86,7	73,8	93,7	48	47	97,9	89,1	99,9
14	46	46	100,0	92,3	100,0	49	49	100,0	92,7	100,0
18C	41	41	100,0	91,4	100,0	43	41	95,4	84,5	98,7
19F	41	39	95,1	83,9	98,7	46	40	87,0	74,3	93,9
23F	45	43	95,6	85,2	98,8	48	46	95,8	86,0	98,9
2-5 años										
1	42	9	21,4	11,7	35,9	41	7	17,1	8,5	31,3
5	41	15	36,6	23,6	51,9	41	12	29,3	17,6	44,5
6B	37	21	56,8	40,9	71,3	36	17	47,2	32,0	63,0
14	37	25	67,6	51,5	80,4	36	24	66,7	50,3	79,8
18C	38	7	18,4	9,2	33,4	39	4	10,3	4,1	23,6
19F	42	12	28,6	17,2	43,6	41	14	34,2	21,6	49,5
23F	39	17	43,6	29,3	59,0	40	16	40,0	26,4	55,4

SV: Serotipos vacunales; OPA: Actividad opsonofagocítica.

Al realizar la comparación de los títulos medio geométricos por OPA según vacunas (Tabla 13), se demostró también la condición de no inferioridad. Para todos los serotipos se constató una razón de TMG superior a 0,5 en PCV7-TT y Prevnar13®.

Tabla 13: Títulos medio geométricos por actividad opsonofagocítica según vacunas y serotipos vacunales.

Grupo edad / SV	PCV7-TT				Pevnar13®				TMG	IC 95%	
	n	TMG	Min	Max	n	TMG	Min	Max		Min	Max
12-23 meses											
1	40	20,6	<1:8	633	42	12,9	<1:8	640	1,59	0,711	3,574
5	40	153,7	<1:8	1932	43	134,1	<1:8	2187	1,15	0,56	2,347
6B	45	2439,7	<1:8	116934	48	4425,9	<1:8	40803	0,55	0,221	1,374
14	46	15184,6	739	170586	49	4907,1	114	262440	3,09	1,825	5,248
18C	41	2521,6	188	22868	43	1553,6	<1:8	21597	1,62	0,865	3,045
19F	41	1458,2	<1:8	9143	46	768,3	<1:8	6550	1,9	0,809	4,455
23F	45	8955,8	<1:8	153726	48	6406,7	<1:8	122151	1,4	0,602	3,246
2-5 años											
1	42	8,8	<1:8	357	41	6,4	<1:8	318	1,36	0,747	2,473
5	41	11,5	<1:8	407	41	13,8	<1:8	1814	0,83	0,376	1,847
6B	37	88,9	<1:8	3989	36	59,1	<1:8	3895	1,5	0,39	5,814
14	37	246,4	<1:8	60109	36	224,9	<1:8	4915	1,1	0,272	4,418
18C	38	10,5	<1:8	2719	39	6,6	<1:8	1017	1,57	0,685	3,615
19F	42	16,4	<1:8	4423	41	18,8	<1:8	1860	0,88	0,321	2,386
23F	39	48,4	<1:8	4673	40	45,3	<1:8	14820	1,07	0,278	4,105

TMG post: Título medio geométrico postvacunación. Criterio de no inferioridad la proporción de TMG >0,5 (PCV7-TT/Pevnar13®). SV: Serotipos vacunales.

Más del 90% de los niños de 12 a 23 meses seroconvierten para los serotipos 1, 14 y 18C en ambos grupos de vacunados (Tabla 14). Por su parte los serotipos 5, 19F y 23F mostraron incremento ≥ 2 de los títulos de anticuerpos en más del 80% de los niños vacunados con PCV7-TT y Pevnar13®.

La proporción de seroconversión en los niños de 2 a 5 años se comportó con porcentajes inferiores con respecto a los niños pequeños, pero importante señalar que fue similar para ambas vacunas; encontrándose entre el 52% y 78% para todos los serotipos excepto el serotipo 18C donde más del 90% de los niños alcanzaron seroconversión.

Tabla 14: Proporción de niños con seroconversión según vacunas y serotipos vacunales.

Grupos de edad / Serotipos	PCV7-TT				Pevnar13 [®]			
	Post IgG/Pre IgG ≥ 2		IC 95%		Post IgG/Pre IgG ≥ 2		IC 95%	
	n	%	LI	LS	n	%	LI	LS
12-23 meses	N=266				N=269			
1	240	90.23	86.06	93.24	255	94.8	91.45	96.87
5	234	87.97	83.51	91.35	244	90.71	86.64	93.63
6B	208	78.2	72.85	82.74	214	79.55	74.33	83.94
14	252	94.74	91.36	96.84	247	91.82	87.93	94.54
18C	256	96.24	93.22	97.95	258	95.91	92.83	97.7
19F	221	83.08	78.11	87.11	220	81.78	76.74	85.94
23F	232	87.22	82.67	90.71	228	84.76	79.98	88.56
2-5 años	N=284				N=285			
1	212	74.65	69.28	79.36	224	78.6	73.47	82.96
5	148	52.11	46.31	57.86	190	66.67	61	71.89
6B	163	57.39	51.58	63.01	160	56.14	50.34	61.78
14	224	78.87	73.76	83.22	188	65.96	60.28	71.22
18C	259	91.2	87.33	93.97	271	95.09	91.92	97.05
19F	155	54.58	48.76	60.27	169	59.3	53.51	64.84
23F	166	58.45	52.64	64.03	172	60.35	54.57	65.86

Seroconversión: incremento de dos veces la concentración de los títulos de anticuerpos con respecto a los valores prevacunación.

Discusión

El perfil de seguridad mostrado en esta investigación (66% de los niños sin eventos adversos), es semejante a las vacunas conjugadas antineumocócicas

registradas (Pevnar7[®], Pevnar13[®] y Synflorix), donde los eventos adversos solicitados son los que principalmente se reportan en niños y adultos vacunados ⁽⁸²⁾.

En un metanálisis publicado en 2013, para evaluar la seguridad de la vacuna comercial Pevnar13[®], donde se incluyeron estudios randomizados, doble ciego y multicéntrico de Estados Unidos, Europa y Asia, se evidenció entre los eventos adversos locales más frecuentes: la induración en un 46,7%, la inflamación en un 28,5% y el enrojecimiento en 36,4%. La fiebre, como evento adverso solicitado sistémico, se reportó en un rango de 23,9% a un 36,9%. Los eventos adversos no solicitados fueron menores del 4,5% ⁽⁴⁸⁾.

En un estudio realizado en la India en niños y adolescentes, se demostró la seguridad de la vacuna Pevnar13[®] en esta población con menos de un 10% de eventos adversos reportados. La producción de anticuerpos contra los antígenos vacunales, para todos los serotipos, estuvo en el rango de 65% a 100%, demostrándose que produce respuesta inmune contra los serotipos contenidos en ella, para este grupo de edad ⁽⁵⁰⁾.

Ruiz y colaboradores (2013), mediante un metanálisis sobre la seguridad e inmunogenicidad de la Pevnar13[®] también reportaron que la vacuna era bien tolerada por todos los grupos de edades estudiados y que los eventos adversos solicitados fueron los más frecuentes, resultados similares a los reportados por Pevnar7[®] en un rango de 5% a 25%. Todos los estudios incluidos en este metanálisis mostraron que la concentración de anticuerpos antipolisacáridos ($\geq 0.35 \mu\text{g/ml}$) se logró en al menos un 89% de los lactantes vacunados ⁽⁸³⁾.

En una revisión sistemática del 2015, en 30 estudios de 74 evaluados sobre la respuesta inmune inducida por la vacunación con Pevnar7[®] y Pevnar13[®], se encontró que los niños vacunados estaban protegidos en un rango entre 69% hasta un 100% contra los serotipos incluidos en estas vacunas ⁽⁴⁶⁾.

Un ensayo clínico fase III conducido en Japón, donde se enrolaron 193 lactantes vacunados con Pevnar13[®], mostró que el porcentaje de sujetos con concentración de anticuerpos antipolisacáridos (IgG) ≥ 0.35 $\mu\text{g/ml}$, resultó ser de 98,9% a 100% para todos los serotipos, después de terminado el esquema de dosis (3p+0). La concentración media geométrica se incrementó de 2,06 $\mu\text{g/ml}$ a 16,33 $\mu\text{g/ml}$ después de tres dosis de la vacuna. Los eventos adversos locales y la fiebre fueron generalmente leves y moderados, en un rango de 6% a 14%; demostrándose la seguridad y la inmunogenicidad de la vacuna Pevnar13[®] ⁽⁸⁴⁾.

En Cuba, un ensayo clínico doble ciego, fase I, realizado en adultos sanos comparando la vacuna PCV7-TT con la PPV-23 demostró, que los eventos adversos solicitados locales más frecuentes fueron el dolor, el enrojecimiento y la induración. El malestar general y la cefalea se reportaron como eventos sistémicos en menos del 5% de los sujetos. Después de la vacunación, en el 100% de los sujetos se incrementó la concentración de anticuerpos anticapsulares (≥ 0.20 $\mu\text{g/ml}$) y más del 50% mostró títulos opsonofagocíticos $\geq 1:8$. Se concluyó que una dosis del candidato vacunal cubano (PCV7-TT) fue segura para adultos sanos y mostró que fue capaz de activar una respuesta inmune contra los serotipos de neumococo utilizados ⁽⁴⁴⁾.

Otro ensayo clínico controlado, randomizado, doble ciego, fase I en niños cubanos de cuatro a cinco años de edad donde se comparó el candidato vacunal cubano (PCV7-TT) con Synflorix, demostró que todos los serotipos incluidos en la PCV7-TT indujeron un incremento significativo de la concentración media geométrica de anticuerpos anticapsulares (CMG IgG) y de títulos opsonofagocíticos; mostró además resultados preliminares de la seguridad del candidato vacunal cubano ⁽⁴⁵⁾. Resultados estos similares a los encontrados en esta investigación.

3.3 Evaluación de los cambios en la colonización nasofaríngea un año después de la administración de vacunas antineumocócicas

Del total de niños elegibles (1 135 vacunados en el ensayo clínico con PCVs), se incluyeron 555 niños distribuidos en grupos de edades, 293 (52,8%) correspondieron al grupo de edad de 12 a 23 meses y 262 (47,2%) al grupo de 2 a 5 años, como se observa en la Figura 13.

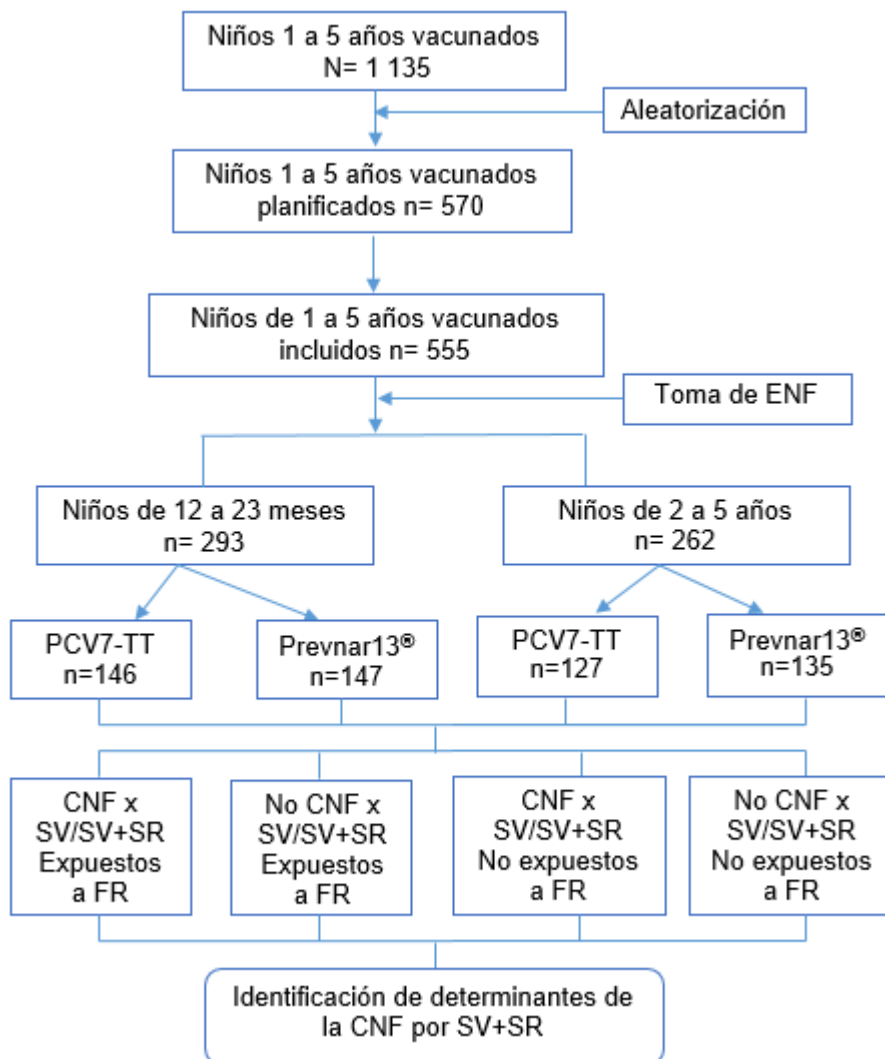


Figura 13. Diagrama de flujo del estudio de los cambios en la colonización nasofaríngea un año después de la administración de PCVs. Cienfuegos 2015-2016.

Las características demográficas de los vacunados incluidos en el estudio se presentan en la Tabla 15. Existió predominio del sexo masculino (53,5%). Las áreas de salud I y III aportaron el 55,4% de los niños estudiados.

Tabla 15. Distribución de los niños por grupos de edad y características demográficas. Cienfuegos 2015-2016.

Características demográficas		1-5 años N=555		12-23 meses N=293		2-5 años N=262	
		n	%	n	%	n	%
Sexo	Femenino	258	46,5	129	44	129	49,2
	Masculino	297	53,5	164	56	133	50,8
Área de salud	I	164	29,5	58	19,8	106	40,5
	III	144	25,9	45	15,4	99	37,8
	V	130	23,4	73	24,9	57	21,8
	VI	37	6,7	37	12,6	0	0
	Otras	80	14,4	80	27,3	0	0

La proporción global de colonización nasofaríngea en el grupo de niños preescolares (Tabla 16), varió de un 34,0% previo a la administración de vacunas antineumocócicas a un 26,7% ($p=0,008$), un año después de vacunados. La mayor reducción se observó en el grupo de 2 a 5 años (61,6%, $p=0,000$). Sin embargo, en el grupo de 12 a 23 meses se constató un incremento significativo de la proporción global de colonización nasofaríngea (48,1%, $p=0,002$).

Tabla 16. Cambios en la proporción global de colonización nasofaríngea en niños preescolares que recibieron PCVs. Cienfuegos 2015-2016.

Grupos de edad	Proporción global de serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i>		
	Pre n (%)	Post n (%)	Dif %* (p)
12-23 meses n=293	69 (23,5)	102 (34,8)	48.1 (0,00239)
2-5 años n=262	120 (45,8)	46 (17,6)	-61.6 (<0,0001)
Total (1-5 años) n=555	189 (34,0)	148 (26,7)	-21,5 (0,00878)

Dif%: Diferencia porcentual entre pre y post vacunación

En los niños de 12 a 23 meses (Tabla 17) se aprecia una reducción de la colonización por SV en vacunados con PCV7-TT y Pevnar13[®] (17,6% y 36,4% respectivamente). Esta reducción en los niños de 2 a 5 años fue mayor; superan el 75% ambas vacunas. En cuanto a los denominados serotipos relacionados (6A y 19A) la disminución supera el 60%.

Nótese el incremento de la colonización nasofaríngea en los niños de 12 a 23 meses a expensa de los serotipos no vacunales, superior a un 100% tanto para los vacunados con PCV7-TT como con Pevnar13[®].

Tabla 17: Proporción de colonización nasofaríngea pre y post vacunación con PCVs según vacunas y tipo de serotipos.

Grupo de edad	PCV7-TT				Dif% Grupo 1	Prevnar13®				Dif% Grupo 2
	Pre		Post			Pre		Post		
	n	%	n	%		n	%	n	%	
12-23 meses	N=146					N=147				
Total	26	17,8	55	37,7	111,5	43	29,2	47	32,0	9,3
SV	17	11,6	14	9,6	-17,6	22	15,0	14	9,5	-36,4
SR	5	3,4	16	11,0	220,0	9	6,1	10	6,8	11,1
SNV	3	2,0	21	14,4	600,0	10	6,8	21	14,3	110,0
2-5 años	N=127					N=135				
Total	59	46,5	22	17,3	-62,7	61	45,2	24	17,8	-60,7
SV	24	18,9	6	4,7	-75,0	34	25,2	7	5,2	-79,4
SR	17	13,4	5	3,9	-70,6	13	9,6	5	3,7	-61,5
SNV	12	9,4	10	7,9	-16,7	6	4,4	10	7,4	66,7

SV: serotipos vacunales incluidos en PCV7-TT; SR: serotipos relacionados: 6A, 19A; SNV: serotipos no vacunales. Dif%: Diferencia porcentual entre pre y post vacunación.

Los niños de 12 a 23 meses de edad (Tabla 18), eliminaron la colonización nasofaríngea tanto para los serotipos vacunales como para los serotipos relacionados, en más de un 70% al año de ser vacunados con PCVs. En el grupo de edad de 2 a 5 años la eliminación de los serotipos vacunales y relacionados en la nasofaringe resultó superior al 80%, con similar comportamiento para los dos grupos comparados. Por otro lado, es importante destacar que para ambas vacunas y edades, los niños no adquirieron la colonización por neumococo en más de un 97%.

Tabla 18: Cambios en la colonización nasofaríngea según vacunas y serotipos vacunales y relacionados.

Edad / SV- SR	Eliminación de la CNF (+ a -)						No adquiere CNF (- a -)					
	PCV7-TT			Pevnar13®			PCV7-TT			Pevnar13®		
	N1	n1	%	N1	n1	%	N2	n2	%	N2	n2	%
12-23 meses												
6B	4	4	100	7	7	100	142	138	97,0	140	137	97,9
14	0	0	0	3	3	100	146	143	98,0	144	143	99,3
18C	0	0	0	0	0	0	146	146	100	147	147	100
19F	8	8	100	10	7	70,0	138	135	98,0	137	131	95,6
23F	5	4	80,0	2	2	100	141	138	98,0	145	144	99,3
6A	2	2	100	7	6	85,7	144	132	92,0	140	133	95,0
19A	3	3	100	2	2	100	143	139	97,0	145	143	98,6
2-5 años												
6B	7	7	100	11	11	100	120	118	98,0	124	123	99,2
14	4	4	100	6	6	100	123	123	100	129	129	100
18C	1	1	100	0	0	0	126	126	100	135	135	100
19F	10	10	100	8	7	87,5	117	115	98,0	127	124	97,6
23F	2	2	100	9	8	88,9	125	123	98,0	126	125	99,2
6A	11	9	81,8	6	5	83,3	116	115	99,0	129	126	97,7
19A	6	6	100	7	6	85,7	121	119	98,0	128	128	100

CNF: colonización nasofaríngea; SV: Serotipos vacunales; SR: Serotipos relacionados. N1: colonizados prevacunación; n1: eliminan la colonización postvacunación; N2: no colonizados prevacunación; n2: no colonizados postvacunación.

El análisis de los factores de riesgo asociados con la colonización nasofaríngea por serotipos vacunales y relacionados en niños vacunados con PCVs (Tabla 19), mostró que tener entre 2 y 5 años ($p=0,0015$) actúa como factor protector para la colonización nasofaríngea con respecto al niño pequeño. Sin embargo, convivir con personas mayores de 65 años ($p=0,0448$) constituye un factor de riesgo significativamente relacionado con la colonización nasofaríngea.

Tabla 19: Factores de riesgo asociados a la colonización por serotipos vacunales y relacionados en niños vacunados con PCVs. Cienfuegos 2015-16.

Factores de riesgo	CNF (SV y SR) N=77		No CNF (SV y SR) N=478		OR (IC95%)	p
	n	%	n	%		
Factores individuales						
Edad (2-5 años)	23	29,9	239	50,0	0,43 (0,24-0,73)	0,0015
Lactancia materna exclusiva hasta los seis meses	29	37,7	197	41,2	0,86 (0,50 -1,45)	0,6429
Previa hospitalización en el último año	6	7,8	23	4,8	1,67 (0,54-4,40)	0,2715
Uso de antibiótico en los últimos dos meses	18	23,7	127	27,1	0,83 (0,44-1,50)	0,6230
Infección respiratoria en los últimos 30 días	16	20,8	87	18,3	1,17 (0,60- 2,17)	0,7211
Más de cinco episodios de infecciones respiratorias en el último año	32	43,2	185	38,9	1,19 (0,70-2,01)	0,5651
Factores del hogar						
Compartir la habitación con más de dos personas	15	19,5	124	25,9	0,69 (0,35-1,28)	0,2834
Exposición al cigarro	25	32,5	161	33,8	0,94 (0,54-1,61)	0,9174
Cohabitar con niños menores de cinco años	21	27,3	101	21,1	1,399 (0,77-2,48)	0,2893
Cohabitar con personas mayores de 65 años	20	26,0	76	15,9	1,85 (1-3,35)	0,0448

CNF: Colonización nasofaríngea; SV: Serotipos vacunales; SR: Serotipos relacionados.

Al evaluar los factores de riesgo asociados a la eliminación y no adquisición de los serotipos vacunales y relacionados en los niños vacunados con PCVs (Tabla 20), se encontró que la edad de 2 a 5 años estuvo significativamente relacionada a la eliminación ($p= 0,0383$) y la no adquisición ($p=0,0069$) de estos serotipos.

Tabla 20: Factores de riesgo asociados con la eliminación y no adquisición de la colonización nasofaríngea por serotipos vacunales y relacionados en niños vacunados con PCVs. Cienfuegos 2015-16.

Serotipos vacunales y relacionados				
Factores de riesgo	Eliminación		No adquisición	
	<i>p</i>	OR IC95%	<i>p</i>	OR IC95%
Factores individuales				
Edad (2-5 años)	0,0383	0,36 0,13-0,96	0,0069	0,40 0,19-0,80
Lactancia materna exclusiva hasta los seis meses	0,634	0,73 0,26-1,94	0,8816	0,91 0,48-1,17
Previa hospitalización en el último año	1	0,97 0,02-9,3	0,197	1,97 0,55-5,86
Uso de antibiótico en los últimos 2 meses	0,3911	0,53 0,12-1,74	1	1 0,48-1,98
Infección respiratoria en los últimos 30 días	0,5692	0,62 0,11-2,36	0,3595	1,46 0,68-3
Más de cinco episodios de infecciones respiratorias en el último año	0,463	1,55 0,56-4,22	0,9453	1,07 0,56-2,02
Factores del hogar				
Compartir la habitación con más de dos personas	0,3202	0,49 0,11-1,62	0,6243	0,79 0,35-1,64
Exposición al cigarro	0,8121	1,24 0,44-3,37	0,6673	0,83 0,41-1,60
Cohabitar con niños menores de 5 años	0,9773	1,16 0,34-3,48	0,2882	1,5 0,73-2,98
Cohabitar con mayores de 65 años	0,2281	1,95 0,55-6,13	0,1088	1,83 0,86-3,72

SV: Serotipos vacunales; SR: Serotipos relacionados.

Como se puede apreciar en la Tabla 21, se corroboró el efecto directo de la vacunación con PCVs sobre la CNF por serotipos vacunales y relacionados. La estimación de riesgo atribuible, indicó que un individuo no vacunado tiene un 89% de riesgo de colonizarse por neumococo.

Por otro lado, se evidencia que la CNF por serotipos vacunales y relacionados es prevenida en un 83% en niños vacunados con PCVs. La vacunación antineumocócica resulta eficaz para la eliminación del estado de portador, así como para evitar la adquisición de esta.

A través de la estimación del impacto poblacional se evidenció que el 66% de la CNF por SV y SR que ocurre en la población puede ser evitado con la vacunación antineumocócica en niños prescolares.

Tabla 21: Evaluación de la eficacia de la vacunación antineumocócica en expuestos y en la población general para niños de 1 a 5 años.

Parámetros	Estimador	Resultados	Interpretación
Efecto Directo			
Riesgo atribuible a los expuestos vacunación con PCVs. (RApcv)	$RA_{pcv} = \frac{p_{CNF\ vac} - p_{CNF\ n-vac}}{a+b/n - a+c/n}$	$(3+23) / 555 - (3+138) / 555 = -0.21$ 21% 100-21%=89%	Cantidad (%) de prevalencia que puede ser atribuida al efecto de la vacunación PCVs
Fracción Prevenida en vacunados (Eficacia total o ET) ET= EE+EA	$ET = 1 - OR - p$ $OR - p = \frac{b}{c}$ $OR - p = \frac{p_{CNF\ vac} - p_{CNF\ n-vac}}{a+b/n - a+c/n}$	$b/c = 23 / 138 = 0.17$ $1 - 0.17 = 0.83 = 83\%$	Eficacia en la eliminación de la CNF y evita la adquisición de la CNF (SV/SR). Proporción de la CNF (SV/SR) en expuestos a PCVs que es prevenida por una intervención beneficiosa (vacunación con PCVs)
Fracción de eliminación de CNF SV vacunados (Eficacia en la eliminación de la CNF (EE))	$EE = 1 - OR - p$ $OR - p = c/a$	$c/a + c,$ $138 / (3+138) = 138 / 141 = 0.98$ 98%	Eficacia de la vacuna en eliminar la CNF x SV y SR en individuos previamente colonizados por serotipos SV y SR
Fracción de evitar la adquisición de la CNF vacunados (Eficacia para evitar la CNF (EA))	$EA = 1 - OR - p$ $OR - p = d/b$	$d/d+b$ $391 / (23+391) = 391 / 414 = 0.944$ 94.4%	Eficacia de la vacuna para evitar la CNF por SV y SR previo a la vacunación,
Impacto poblacional			
Fracción Poblacional prevenible (FPprevenible)	$FP_{prevenible} = \frac{p_{CNF\ pob} - p_{CNF\ vac}}{p_{CNF\ pob}}$ Se asumió una prevalencia por SV+R del 14%	$(0.14 - 0.26 / 555) / 0.14 = 0.66$ 66%	Proporción de CNF x SV y SR que ocurre en la población y que podría ser evitado con la vacunación con PCVs
Fracción Poblacional prevenida (FPprevenida)	$FP_{prevenida} = \frac{p_{CNF\ n-vac} - p_{CNF\ pob}}{p_{CNF\ n-vac}}$	$(141 / 555 - 0.14) / (141 / 555) = 0.45$ 45%	Riesgo de que ocurra la CNF x SV y SR en la población si no es expuesta a la vacunación con PCVs

Discusión

Numerosas investigaciones han demostrado una disminución de la prevalencia de enfermedad neumocócica invasiva y en la CNF por serotipos vacunales asociado al uso rutinario de PCVs (8, 85, 86, 87).

La disminución en la prevalencia de la colonización nasofaríngea por neumococo después de la vacunación con PCVs constatada en los estudios en la población de niños cubanos, está en concordancia con lo descrito en la literatura científica que oscila en un rango entre 50% a 80%, a expensa de la disminución en la circulación de los serotipos vacunales (87, 88).

En Corea, se describe una disminución en la prevalencia de colonización nasofaríngea por serotipos incluidos en las vacunas Prevnar7® y Prevnar13®, después de iniciada la vacunación con estas vacunas (de 59.1% en el 2010 a 17.0% en el 2014; $p < 0.001$). Sin embargo, este mismo autor demostró que en igual período de estudio, existió un aumento en la circulación de serotipos no vacunales (40.9% en el 2010 a un 83% en el 2014, $p < 0.001$) (87).

En la actualidad son varios los artículos que insisten en la reducción de la prevalencia de la colonización nasofaríngea por neumococo con la introducción de la PCVs, pero no existe hasta la fecha una evidencia clara del tiempo que demora la adquisición de un nuevo episodio de colonización, sobre todo por serotipos emergentes (79).

En Estados Unidos, en un estudio que compara la tasa de incidencia de meningitis neumocócica antes y después de introducida la vacunación con PCVs, se informó que existió una disminución global de $1,13 \times 10^5$ habitantes en el

período 1998 a 1999 a $0,79 \times 10^5$ habitantes entre el 2004 a 2005 (30,1% de descenso, $p < 0,001$), reducción que en los menores de dos años fue hasta un 64% ⁽⁸⁹⁾.

En un contexto ambiental bien diferente, en un estudio de cinco años realizado en Alaska, también se reportó que la prevalencia de serotipos incluidos en la vacuna Prevnar13[®] aislados en la colonización nasofaríngea, disminuyó significativamente a más del 70% después de su introducción en el programa de vacunación ⁽⁹⁰⁾.

De igual manera, en Dinamarca existió una disminución de un 30% en la incidencia de la ENI asociado a una disminución en la mortalidad por esta causa, sobre todo en los menores de dos años, después de la introducción de la PCVs ⁽⁹¹⁾.

Clásicamente existen factores de riesgo que se han asociado a la no eliminación y a la adquisición de la colonización nasofaríngea por neumococo.

Resulta conocida la presencia de factores que limitan la eliminación del neumococo de la nasofaringe, entre ellos se describen el hacinamiento, la asistencia a círculos infantiles, la exposición al humo del cigarro y el uso rutinario de antibióticos, entre otros ⁽⁶⁹⁾.

La convivencia con mayores de 65 años se encontró como factor de riesgo asociado a la colonización nasofaríngea por neumococo. Muchos autores coinciden que además el sexo, el hacinamiento, los productos de uso doméstico para cocinar y convivir con menores de cinco años son factores asociados a la CNF por neumococo ^(67, 79).

En Estados Unidos se estimó que la vacunación con PCVs ha evitado 168.000 hospitalizaciones cada año por enfermedad neumocócica, en todos los grupos de edad incluyendo ancianos ⁽⁹²⁾.

Con los resultados obtenidos en esta investigación se confirma que la CNF por neumococo es un proceso dinámico, cambiante, prevenible y que puede ser modificado con la introducción de vacunas antineumocócicas. Realizar estudios de vigilancia de los cambios que se pueden suceder en la prevalencia de serotipos que colonizan la nasofaringe en los niños cubanos, son necesarios para la detección sistemática de los nuevos serotipos circulante de neumococo, con especial interés en los grupos de riesgo.

4. DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de esta investigación muestran evidencias que van más allá de la concepción de la investigación clínica de vacunas basada en ensayos clínicos para asumir el reto de la complejidad de la evaluación de nuevas vacunas preventivas para la infancia.

Múltiples han sido las revisiones sistemáticas, metanálisis y estudios observacionales que exploran el comportamiento de la CNF por neumococo en la edad pediátrica a nivel mundial, no así en nuestro país ^(16, 17, 32, 34, 43, 53, 78). De este modo los resultados aquí descritos, resultan las primeras estimaciones en Cuba de la magnitud del problema en la población infantil menor de cinco años.

Al considerar el nivel de evidencia que aportan los ensayos clínicos, se demostró que el candidato vacunal cubano conjugado heptavalente resultó ser seguro e inmunogénico y se comprueba la no inferioridad con la mejor vacuna comercial disponible en el mercado. Se constató el efecto directo de la vacunación antineumocócica sobre la CNF en vacunados y se estimó el impacto poblacional esperado, una vez introducida la vacuna al programa nacional de vacunación.

Las tasas de prevalencia de colonización nasofaríngea detectadas en Cuba no difieren de reportes internacionales de estudios conducidos previos a la introducción de la vacunación antineumocócica ^(32, 63). El ambiente de institucionalización, en este caso en círculos infantiles, incrementa significativamente la proporción de

colonización en niños preescolares. El hecho de que la mayor proporción de circulación detectada corresponda a serotipos contenidos en el candidato vacunal, representa la posibilidad de impactar en la carga de colonización a nivel poblacional y con ello sobre la carga de enfermedad invasiva también en población no vacunada como los lactantes y los ancianos.

La detección de otros factores de riesgo como antecedentes de infecciones respiratorias, hospitalizaciones previas, convivir con mayores de 65 años y menores de cinco años resulta de gran valor para trazar políticas de salud como las regulaciones en el uso de antibióticos en población infantil que contribuirán a largo plazo a mantener una elevada eficacia de la vacuna, con lo que se retrasa el problema de la reemergencia de nuevos serotipos y la resistencia antimicrobiana.

Los resultados del contexto cubano no difieren significativamente de reportes sobre este tema en otras regiones del mundo, donde se demuestra que la colonización nasofaríngea ocurre desde los primeros meses de edad, que se incrementa en los preescolares y se asocia a varios factores de riesgo como la edad, la zona geográfica, el hacinamiento, el uso de antibióticos, convivencia con ancianos, entre otros ^(63, 77).

Estos estudios de colonización concebidos como parte de la línea de base para la introducción de la vacuna, constituyen una robusta evidencia científica que permitirá no solo monitorear la efectividad e impacto del nuevo candidato vacunal cubano, sino planear las nuevas generaciones de vacunas antineumocócicas para los niños cubanos atendiendo a los nuevos serotipos que reemerjan.

La mayoría de los países del mundo han introducido la vacunación antineumocócica en lactantes ^(9, 84). El modelo cubano de evaluación ^(93, 94) representa un cambio de paradigma a nivel internacional al plantear la introducción de PCVs en el niño preescolar como estrategia para maximizar el efecto poblacional con impacto sobre la carga de colonización en el grupo de edad que soporta la transmisión a nivel comunitario.

Los resultados aquí mostrados sobre seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano resultan un importante aporte para la ciencia cubana e internacional. Constituía un importante reto, el tener que compararlo con una vacuna con seguridad e inmunogenicidad demostrada ⁽⁹⁵⁾ que por su contenido resultaba superior en la cobertura de serotipos, dos de los cuales (6A y 19A) también son frecuentemente aislados en enfermedad invasiva en niños cubanos ⁽²¹⁾.

En varias regiones del mundo, se ha documentado que existe disminución en la circulación de los serotipos vacunales y relacionados entre un 60% y 100% ^(9, 40, 80). Sin embargo, la necesidad de demostrar el impacto de las vacunas antineumocócicas en la CNF ha alcanzado gran auge en los últimos cinco años ⁽⁹⁶⁾. La reducción de la colonización nasofaríngea en más de un 70% de los niños cubanos vacunados sin que pueda establecerse diferencia estadística entre las vacunas utilizadas, constituye el más alentador de los resultados en la evaluación de la vacuna cubana, si se tiene en cuenta que es un importante subrogado para generar un efecto de rebaño a nivel poblacional y reducir la morbilidad y mortalidad asociada a la infección por esta bacteria.

Construir el cuerpo de evidencias científicas para facilitar la toma de decisiones sobre la introducción de una nueva vacuna, raramente se basa en un solo estudio clínico, sino en la combinación de diseños robustos como los ensayos clínicos y estudios observacionales que permitan la evaluación de efectividad e impacto en condiciones de vida real de los programas. Una contribución importante del proyecto de evaluación de la vacuna antineumocócica en términos de valores añadidos es que ha permitido, la participación de diferentes niveles de los servicios de salud; favoreciéndose la organización y el desarrollo de competencias y habilidades del personal involucrado (pediatras, médicos y enfermeras de la familia, vacunadoras, microbiólogos).

La conducción basada en buenas prácticas clínicas y el respeto de los principios y consideraciones éticas añaden confiabilidad y robustez a los resultados que se presentan.

Aunque aún quedan preguntas por responder y otras tantas que se generan a través de los resultados de esta investigación, cada uno de los estudios aborda brechas del conocimiento sobre las temáticas, surgen nuevas preguntas e hipótesis sobre problemas no resueltos que pudieran originar nuevas investigaciones.

Tomando en cuenta todos los elementos expuesto hasta aquí, se evidencia que el diseño, la implementación y los resultados de este trabajo ofrecen herramientas a los investigadores, evaluadores y decisores de salud para la certificación e introducción de la PCV7-TT en el programa nacional de vacunación en Cuba y a su vez poderse comercializar, sobre todo en los países del sur.

CONCLUSIONES

- La colonización nasofaríngea por neumococo en los niños cubanos se inicia desde los primeros meses de la vida con predominio de los serotipos incluidos en la PCV7-TT, pero se incrementa significativamente en la población preescolar asociada a la institucionalización.
- El candidato vacunal cubano PCV7-TT resulta seguro y no inferior en términos de inmunogenicidad a la mejor vacuna disponible en el mercado (Pevnar13®).
- La administración de la vacunación antineumocócica en niños preescolares impacta tempranamente y de manera significativa en la carga de colonización de los niños vacunados, favorece la eliminación del estado de portador o evita su adquisición.
- El impacto poblacional estimado a partir de los datos del ensayo clínico sugiere que la estrategia cubana de introducción de la vacunación antineumocócica podría maximizar los efectos, al reducir la circulación de serotipos en la población preescolar y con ello generar una inmunidad de rebaño.

RECOMENDACIONES

- Divulgar los resultados de la investigación, entre la comunidad científica cubana para estimular el desarrollo de futuros estudios sobre los cambios en la circulación de los serotipos de neumococo en la edad pediátrica.
- Compilar la evidencia científica disponible sobre la seguridad e inmunogenicidad del candidato vacunal cubano para acelerar el proceso de registro e introducción de la vacunación antineumocócica en Cuba.
- Promover el desarrollo de nuevas investigaciones postlicenciamiento que permitan demostrar el impacto de la vacuna cubana y soportar con evidencias robustas su uso y comercialización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. World Health Organization. Estimated Hib and pneumococcal deaths for children under 5 years of age; 2008. [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2012 [citado 15 Jun 2018]. Disponible en: https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/estimates/Pneumo_hib/en/
2. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, et al. Global, regional, and national causes of child mortality in 2000-13, with projections to inform post-2015 priorities: an updated systematic analysis. *Lancet*. 2015 Jan 31;385(9966):430-40. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61698-6. Epub 2014 Sep 30. Erratum in: *Lancet*. 2016 Jun 18;387(10037):2506. Erratum in: *Lancet*. 2015 Jan 31;385(9966):420. PubMed PMID: 25280870.
3. Rajaratnam J, Marcus J, Flaxman A, Wang H, Levin-Rector A, Dwyer L, et al. Neonatal, postneonatal, childhood, and under-5 mortality for 187 countries, 1970-2010: a systematic analysis of progress towards Millennium Development Goal 4. *Lancet*. 2010 Jun 5;375(9730):1988-2008. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60703-9. Epub 2010 May 27. Erratum in: *Lancet*. 2010 Aug 28;376(9742):686. *Lancet*. 2010 Jun 19;375(9732):2142. PubMed PMID: 20546887.

4. Ngo C, Massa H, Thornton R, Cripps A. Predominant Bacteria Detected from the Middle Ear Fluid of Children Experiencing Otitis Media: A Systematic Review. PLoS One. 2016 Mar 8;11(3):e0150949. doi: 10.1371/journal.pone.0150949. eCollection 2016. Review. PubMed PMID: 26953891; PubMed Central PMCID: PMC4783106.
5. Kim C, Song J, Choi S, Song K, Choe P, Park W, et al. Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibilities of Invasive Streptococcus pneumoniae Isolates from Adults in Korea from 1997 to 2012. J Korean Med Sci. 2016 May;31(5):715-23. doi: 10.3346/jkms.2016.31.5.715. Epub 2016 Mar 29. PubMed PMID: 27134492; PubMed Central PMCID: PMC4835596.
6. Dickinson F, Rodríguez M, Toraño G. Pneumococcal meningitis in Cuban children and adolescents: A fifteen years follow up. Pediatrics Research International Journal [Internet]. 2015 [citado 15 Jun 2018]; 2015: [aprox. 28 p.]. Disponible en: <https://ibimapublishing.com/articles/PRIJ/2015/596251/596251.pdf>
7. Desai A, Sharma D, Crispell E, Baughman W, Thomas S, Tunali A, et al. Decline in Pneumococcal Nasopharyngeal Carriage of Vaccine Serotypes After the Introduction of the 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in Children in Atlanta, Georgia. Pediatr Infect Dis J. 2015 Nov;34(11):1168-74. doi: 10.1097/INF.0000000000000849. PubMed PMID: 26226445.
8. Domínguez Á, Ciruela P, Hernández S, García-García J, Soldevila N, Izquierdo C, et al. Effectiveness of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine

in preventing invasive pneumococcal disease in children aged 7-59 months. A matched case-control study. *PLoS One*. 2017 Aug 14;12(8):e0183191. doi: 10.1371/journal.pone.0183191. eCollection 2017. PubMed PMID: 28806737; PubMed Central PMCID: PMC5555701.

9. Conklin L, Loo J, Kirk J, Fleming-Dutra K, Deloria M, Park D, et al. Systematic review of the effect of pneumococcal conjugate vaccine dosing schedules on vaccine-type invasive pneumococcal disease among young children. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Jan;33 Suppl 2:S109-18. doi: 10.1097/INF.000000000000078. Review. PubMed PMID: 24336053; PubMed Central PMCID: PMC3944481.

10. Watson D, Musher D, Jacobson J, Verhoef J. A brief history of the pneumococcus in biomedical research: a panoply of scientific discovery. *Clin Infect Dis*. 1993 Nov;17(5):913-24. PubMed PMID: 8286641.

11. Hamborsky J, Kroger A, Wolfe S. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. 13th ed. Washington D.C.: Public Health Foundation: Centers for Disease Control and Prevention; 2015.

12. Geno K, Gilbert G, Song J, Skovsted I, Klugman K, Jones C, et al. Pneumococcal Capsules and Their Types: Past, Present, and Future. *Clin Microbiol Rev*. 2015 Jul;28(3):871-99. doi: 10.1128/CMR.00024-15. Review. PubMed PMID: 26085553; PubMed Central PMCID: PMC4475641.

13. Bonten M, Huijts S, Bolkenbaas M, Webber C, Patterson S, Gault S, van Werkhoven C, et al. Polysaccharide conjugate vaccine against pneumococcal

pneumonia in adults. *N Engl J Med.* 2015 Mar 19;372(12):1114-25. doi: 10.1056/NEJMoa1408544. PubMed PMID: 25785969.

14. Ben-Shimol S, Givon-Lavi N, Greenberg D, Dagan R. Pneumococcal nasopharyngeal carriage in children <5 years of age visiting the pediatric emergency room in relation to PCV7 and PCV13 introduction in southern Israel. *Hum Vaccin Immunother.* 2016;12(2):268-76. doi: 10.1080/21645515.2015.1095414. PubMed PMID: 26430921; PubMed Central PMCID: PMC5049747.

15. Johnson H, Deloria-Knoll M, Levine O, Stoszek S, Freimanis L, Reithinger R, et al. Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project. *PLoS Med.* 2010 Oct 5;7(10). pii: e1000348. doi: 10.1371/journal.pmed.1000348. Review. PubMed PMID: 20957191; PubMed Central PMCID: PMC2950132.

16. Balsells E, Guillot L, Nair H, Kyaw M. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in the post-PCV era: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2017 May 9;12(5):e0177113. doi: 10.1371/journal.pone.0177113. eCollection 2017. Review. PubMed PMID: 28486544; PubMed Central PMCID: PMC5423631.

17. Jaiswal N, Singh M, Das R, Jindal I, Agarwal A, Thumburu K, et al. Distribution of serotypes, vaccine coverage, and antimicrobial susceptibility pattern of *Streptococcus pneumoniae* in children living in SAARC countries: a systematic review. *PLoS One.* 2014 Sep 30;9(9):e108617. doi:

10.1371/journal.pone.0108617. eCollection 2014. PubMed PMID: 25268974; PubMed Central PMCID: PMC4182530.

18. Neves F, Cardoso N, Snyder R, Marlow M, Cardoso C, Teixeira L, et al. Pneumococcal carriage among children after four years of routine 10-valent pneumococcal conjugate vaccine use in Brazil: The emergence of multidrug resistant serotype 6C. *Vaccine*. 2017 May 15;35(21):2794-2800. doi:10.1016/j.vaccine.2017.04.019. Epub 2017 Apr 18. PubMed PMID: 28431817.

19. Toraño G, Pías L, Abreu M, Rodríguez M, Dickinson F, Varcárcel M. Serotipos y resistencia antimicrobiana de aislamientos meníngeos de *Streptococcus pneumoniae*. Cuba, 2007-2012. *Vaccimonitor* [Internet]. 2014 Dic [citado 15 Oct 2018];23(3): [aprox. 18 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-028X2014000300006&lng=es

20. Linares N, Toledo M, Santana D, Valdés Y, García D, Vérez V. Evaluation Strategy to Support the Introduction the New Cuban Conjugated Pneumococcal Vaccine in the National Health System. *J Vaccines Vaccin* [Internet]. 2018 [citado 15 Oct 2018]; 9(1): àprox. 19 p.]. Disponible en: <https://www.omicsonline.org/open-access/evaluation-strategy-to-support-the-introduction-the-new-cuban-conjugated-pneumococcal-vaccine-in-the-national-health-system-98326.html>

21. Toraño G, Suárez D, Abreu M, Barreto B, Toledo E, Linares N. Serotipos de *Streptococcus pneumoniae* responsables de enfermedad invasiva en niños cubanos. *Rev Cubana Pediatr* [Internet]. 2017 [citado 15 Oct 2018];89(sup): [aprox. 21 p.]. Disponible en: <http://www.revpediatria.sld.cu/index.php/ped/article/view/151>
22. Tin M, Christopoulou D, Schmitt H. Pneumococcal serotype evolution in Western Europe. *BMC Infect Dis*. 2015 Oct 14;15:419. doi: 10.1186/s12879-015-1147-x. Review. PubMed PMID: 26468008; PubMed Central PMCID: PMC4606906.
23. Gisselsson M. Trends in Otitis Media Incidence After Conjugate Pneumococcal Vaccination: A National Observational Study. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 Nov;36(11):1027-1031. doi: 10.1097/INF.0000000000001654. PubMed PMID: 28657970.
24. Chiu N, Chi H, Peng C, Chang H, Huang D, Chang L, et al. Retrospective study of prognostic factors in pediatric invasive pneumococcal disease. *PeerJ*. 2017 Jan 25;5:e2941. doi: 10.7717/peerj.2941. eCollection 2017. PubMed PMID: 28149700; PubMed Central PMCID: PMC5270593.
25. Bernaola E, Gil F, Herranz M, Gil-Setas A, Guevara M, Castilla J. Pneumococcal Vaccination and Pneumonia Associated With Pleural Effusion in a Pediatric Population. *Pediatr Infect Dis J*. 2018 Apr;37(4):e87-e92. doi: 10.1097/INF.0000000000001798. PubMed PMID: 28938258.

26. Navarro A, Dias J, Quinten C, Hrubá F, Busana M, Lopalco P, et al. European enhanced surveillance of invasive pneumococcal disease in 2010: data from 26 European countries in the post-heptavalent conjugate vaccine era. *Vaccine*. 2014 Jun 17;32(29):3644-50. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.04.066. Epub 2014 May 2. PubMed PMID: 24795228.
27. Baxter R, Yee A, Aukes L, Snow V, Fireman B, Atkinson B, et al. Risk of underlying chronic medical conditions for invasive pneumococcal disease in adults. *Vaccine*. 2016 Aug 5;34(36):4293-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.07.003. Epub 2016 Jul 7. PubMed PMID: 27396493.
28. Backhaus E, Berg S, Andersson R, Ockborn G, Malmström P, Dahl M, et al. Epidemiology of invasive pneumococcal infections: manifestations, incidence and case fatality rate correlated to age, gender and risk factors. *BMC Infect Dis*. 2016 Aug 3;16:367. doi: 10.1186/s12879-016-1648-2. PubMed PMID: 27487784; PubMed Central PMCID: PMC4972955.
29. Sterky E, Bennet R, Lindstrand A, Eriksson M, Nilsson A. The impact of pneumococcal conjugate vaccine on community-acquired pneumonia hospitalizations in children with comorbidity. *Eur J Pediatr*. 2017 Mar;176(3):337-342. doi: 10.1007/s00431-016-2843-2. Epub 2017 Jan 9. PubMed PMID: 28070670; PubMed Central PMCID: PMC5321702.
30. Kantso B, Simonsen J, Hoffmann S, Valentiner P, Petersen A, Jess T. Inflammatory Bowel Disease Patients Are at Increased Risk of Invasive Pneumococcal Disease: A Nationwide Danish Cohort Study 1977-2013. *Am J*

Gastroenterol. 2015 Nov;110(11):1582-7. doi: 10.1038/ajg.2015.284. Epub 2015 Sep 8. PubMed PMID: 26346865.

31. Ochoa O, Hospital I, Vila A, Aragon M, Jariod M, de Diego C, et al. Prevalence of high, medium and low-risk medical conditions for pneumococcal vaccination in Catalanian middle-aged and older adults: a population-based study. BMC Public Health. 2017 Jun 29;17(1):610. doi: 10.1186/s12889-017-4529-8. PubMed PMID: 28662648; PubMed Central PMCID: PMC5492923.

32. Usuf E, Badji H, Bojang A, Jarju S, Ikumapayi U, Antonio M, et al. Pneumococcal carriage in rural Gambia prior to the introduction of pneumococcal conjugate vaccine: a population-based survey. Trop Med Int Health. 2015 Jul;20(7):871-9. doi: 10.1111/tmi.12505. Epub 2015 Apr 6. PubMed PMID: 25778937.

33. Ojal J, Hammitt L, Gaitho J, Scott J, Goldblatt D. Pneumococcal conjugate vaccine induced IgG and nasopharyngeal carriage of pneumococci: Hyporesponsiveness and immune correlates of protection for carriage. Vaccine. 2017 Aug 16;35(35 Pt B):4652-4657. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.05.088. Epub 2017 Jul 21. PubMed PMID: 28739116; PubMed Central PMCID: PMC5571437.

34. Loo J, Conklin L, Fleming K, Knoll M, Park D, Kirk J, et al. Systematic review of the indirect effect of pneumococcal conjugate vaccine dosing schedules on pneumococcal disease and colonization. Pediatr Infect Dis J. 2014 Jan;33 Suppl 2:S161-71. doi: 10.1097/INF.0000000000000084. Review. PubMed PMID: 24336058; PubMed Central PMCID: PMC3940524.

35. Abdullahi O, Karani A, Tigo C, Mugo D, Kungu S, Wanjiru E, et al. Rates of acquisition and clearance of pneumococcal serotypes in the nasopharynges of children in Kilifi District, Kenya. *J Infect Dis.* 2012 Oct 1;206(7):1020-9. doi: 10.1093/infdis/jis447. Epub 2012 Jul 24. PubMed PMID: 22829650; PubMed Central PMCID: PMC3433858.
36. Mayanskiy N, Alyabieva N, Ponomarenko O, Pakhomov A, Kulichenko T, Ivanenko A, et al. Bacterial etiology of acute otitis media and characterization of pneumococcal serotypes and genotypes among children in Moscow, Russia. *Pediatr Infect Dis J.* 2015 Mar;34(3):255-60. doi: 10.1097/INF.0000000000000554. PubMed PMID: 25232779.
37. Porat N, Benisty R, Givon N, Trefler R, Dagan R. The impact of pneumococcal conjugate vaccines on carriage of and disease caused by *Streptococcus pneumoniae* serotypes 6C and 6D in southern Israel. *Vaccine.* 2016 May 27;34(25):2806-12. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.04.043. Epub 2016 Apr 23. PubMed PMID: 27113163.
38. Lee G, Kleinman K, Pelton S, Hanage W, Huang S, Lakoma M, et al. Impact of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccination on *Streptococcus pneumoniae* Carriage in Young Children in Massachusetts. *J Pediatric Infect Dis Soc.* 2014 Mar;3(1):23-32. doi: 10.1093/jpids/pit057. Epub 2013 Oct 3. PubMed PMID: 24567842; PubMed Central PMCID: PMC3933044.
39. Diao W, Shen N, Yu P, Liu B, He B. Efficacy of 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in preventing community-acquired

pneumonia among immunocompetent adults: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Vaccine*. 2016 Mar 18;34(13):1496-1503. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.02.023. Epub 2016 Feb 17. Review. PubMed PMID: 26899376.

40. Regev G, Paran Y, Bishara J, Oren I, Chowars M, Tziba Y, et al. Early impact of PCV7/PCV13 sequential introduction to the national pediatric immunization plan, on adult invasive pneumococcal disease: A nationwide surveillance study. *Vaccine*. 2015 Feb 25;33(9):1135-42. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.01.030. Epub 2015 Jan 20. PubMed PMID: 25613717.

41. Alderson M. Status of research and development of pediatric vaccines for *Streptococcus pneumoniae*. *Vaccine*. 2016 Jun 3;34(26):2959-2961. doi:10.1016/j.vaccine.2016.03.107. Epub 2016 Apr 12. PubMed PMID: 27083428; PubMed Central PMCID: PMC4906266.

42. WHO Publication. Pneumococcal vaccines WHO position paper - 2012 - recommendations. *Vaccine*. 2012 Jul 6;30(32):4717-8. doi:10.1016/j.vaccine.2012.04.093. Epub 2012 May 20. PubMed PMID: 22621828.

43. Fleming K, Conklin L, Loo J, Knoll M, Park D, Kirk J, et al. Systematic review of the effect of pneumococcal conjugate vaccine dosing schedules on vaccine-type nasopharyngeal carriage. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Jan;33 Suppl 2:S152-60. doi: 10.1097/INF.0000000000000083. Review. PubMed PMID: 24336057; PubMed Central PMCID: PMC3940522.

44. González N, Paredes B, Pérez S, Mirabal M, Rivero I, González CA, et al. Safety and Immunogenicity of Cuban Antipneumococcal Conjugate Vaccine PCV7-TT in Healthy Adults. *MEDICC Rev.* 2015 Oct;17(4):32-7. PubMed PMID: 26947279.
45. Dotres C, Puga R, Ricardo Y, Broño C, Paredes B, Echemendía V, et al. Safety and preliminary immunogenicity of Cuban pneumococcal conjugate vaccine candidate in healthy children: a randomized phase I clinical trial. *Vaccine.* 2014 Sep 15;32(41):5266-70. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.06.094. Epub 2014 Jul 26. PubMed PMID: 25068497.
46. Bonner K, Welch E, Elder K, Cohn J. Impact of Pneumococcal Conjugate Vaccine Administration in Pediatric Older Age Groups in Low and Middle Income Countries: A Systematic Review. *PLoS One.* 2015 Sep 2;10(8):e0135270. doi: 10.1371/journal.pone.0135270. eCollection 2015. PubMed PMID: 26332848; PubMed Central PMCID: PMC4557974.
47. Wijmenga A, van Westen E, Knol M, Jongerius R, Zancolli M, Goldblatt D, et al. Direct Comparison of Immunogenicity Induced by 10- or 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine around the 11-Month Booster in Dutch Infants. *PLoS One.* 2015 Dec 10;10(12):e0144739. doi: 10.1371/journal.pone.0144739. eCollection 2015. Erratum in: *PLoS One.* 2016;11(5):e0155088. PubMed PMID: 26658902; PubMed Central PMCID: PMC4690595.
48. Thompson A, Gurtman A, Patterson S, Juergens C, Laudat F, Emini E, et al. Safety of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in infants and children:

meta-analysis of 13 clinical trials in 9 countries. *Vaccine*. 2013 Oct 25;31(45):5289-95. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.08.025. Epub 2013 Aug 20. PubMed PMID: 23973321.

49. Deloria M, Park D, Johnson T, Chandir S, Nonyane B, Conklin L, et al. Systematic review of the effect of pneumococcal conjugate vaccine dosing schedules on immunogenicity. *Pediatr Infect Dis J*. 2014 Jan;33 Suppl 2:S119-29. doi: 10.1097/INF.000000000000079. Review. PubMed PMID: 24336054; PubMed Central PMCID: PMC3940378.

50. Agarkhedkar S, Juergens C, Balasundaram K, Agarkhedkar S, Sundaraiyer V, Le Dren-Narayanin N, et al. Safety and Immunogenicity of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in Children 6-17 Years of Age in India: An Open-label Trial. *Pediatr Infect Dis J*. 2017 Nov;36(11):e283-e285. doi: 10.1097/INF.0000000000001695. PubMed PMID: 28719496.

51. Glesby M, Watson W, Brinson C, Greenberg R, Lalezari J, Skiest D, et al. Immunogenicity and Safety of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in HIV-Infected Adults Previously Vaccinated With Pneumococcal Polysaccharide Vaccine. *J Infect Dis*. 2015 Jul 1;212(1):18-27. doi: 10.1093/infdis/jiu631. Epub 2014 Nov 13. PubMed PMID: 25395187

52. González F, Picazo J, García A, Labrador M, Barrios V, Magro M, et al. Consenso sobre la vacunación anti-neumocócica en el adulto por riesgo de edad y patología de base. Actualización 2017. *Rev Esp Quimioter* [Internet]. 2017

[citado 15 Oct 2018];30 (2): [aprox. 21 p.]. Disponible en. http://seq.es/wp-content/uploads/2017/01/seq_0214-3429_30_2_gonzalez15feb2017.pdf

53. Davis S, Deloria M, Kassa H, O'Brien K. Impact of pneumococcal conjugate vaccines on nasopharyngeal carriage and invasive disease among unvaccinated people: review of evidence on indirect effects. *Vaccine*. 2013 Dec 17;32(1):133-45. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.05.005. Epub 2013 May 16. Review. PubMed PMID: 23684824.

54. Guevara M, Barricarte A, Torroba L, Herranz M, Gil A, Gil F, et al. Direct, indirect and total effects of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease in children in Navarra, Spain, 2001 to 2014: cohort and case-control study. *Euro Surveill*. 2016;21(14). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.14.30186. PubMed PMID: 27103428.

55. Waight P, Andrews N, Ladhani S, Sheppard C, Slack M, Miller E. Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2015 May;15(5):535-43. doi: 10.1016/S1473-3099(15)70044-7. Epub 2015 Mar 20. Erratum in: *Lancet Infect Dis*. 2015 Jun;15(6):629. PubMed PMID: 25801458.

56. Palmu A, Toropainen M, Kaijalainen T, Siira L, Lahdenkari M, Nieminen H, et al. Direct and Indirect Effectiveness of the 10-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Against Carriage in a Cluster Randomized Trial. *Pediatr Infect Dis J*. 2017

Dec;36(12):1193-1200. doi: 10.1097/INF.0000000000001705. PubMed PMID: 28737627.

57. Ricketson L, Conradi N, Vanderkooi O, Kellner J. Changes in the Nature and Severity of Invasive Pneumococcal Disease in Children Before and After the Seven-valent and Thirteen-valent Pneumococcal Conjugate Vaccine Programs in Calgary, Canada. *Pediatr Infect Dis J*. 2018 Jan;37(1):22-27. doi: 10.1097/INF.0000000000001709. PubMed PMID: 28737622.

58. Picazo J, Ruiz J, Casado J, Negreira S, Baquero F, Hernández T, et al. Effect of the different 13-valent pneumococcal conjugate vaccination uptakes on the invasive pneumococcal disease in children: Analysis of a hospital-based and population-based surveillance study in Madrid, Spain, 2007-2015. *PLoS One*. 2017 Feb 16;12(2):e0172222. doi: 10.1371/journal.pone.0172222. eCollection 2017. PubMed PMID: 28207888; PubMed Central PMCID: PMC5312951.

59. Nzenze S, Madhi S, Shiri T, Klugman K, de Gouveia L, Moore D, et al. Imputing the Direct and Indirect Effectiveness of Childhood Pneumococcal Conjugate Vaccine Against Invasive Pneumococcal Disease by Surveying Temporal Changes in Nasopharyngeal Pneumococcal Colonization. *Am J Epidemiol*. 2017 Aug 15;186(4):435-444. doi: 10.1093/aje/kwx048. PubMed PMID: 28482004.

60. Satzke C, Turner P, Virolainen-Julkunen A, Adriang P, Antoniah M, Hareii KM, et al; WHO Pneumococcal Carriage Working Group. Standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*: updated

recommendations from the World Health Organization Pneumococcal Carriage Working Group. *Vaccine*. 2013 Dec 17;32 (1):165–79. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.08.062. Review. PubMed PMID: 24331112.

61. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, [Internet]. Vienna (Austria): Foundation for Statistical Computing; 2018 [citado 15 Oct 2018]. Disponible en: <https://www.gbif.org/tool/81287/r-a-language-and-environment-for-statistical-computing>

62. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la AMM -Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013. [Internet]. Fortaleza (Brasil): Asociación Médica Mundial; 2014 [citado 15 Jul 2018]. Disponible en: <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-evaluacion/fd-evaluacion-etica-investigacion/Declaracion-Helsinki-2013>

63. Menezes A, Azevedo J, Leite M, Campos L, Cunha M, Carvalho Mda G, et al. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* among children in an urban setting in Brazil prior to PCV10 introduction. *Vaccine*. 2016 Feb 3;34(6):791-7. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.12.042. Epub 2015 Dec 29. PubMed PMID: 26742946; PubMed Central PMCID: PMC4729601.

64. Ing J, Mason E, Kaplan S, Lamberth L, Revell P, Luna R, et al. Characterization of nontypeable and atypical *Streptococcus pneumoniae* pediatric isolates from 1994 to 2010. *J Clin Microbiol*. 2012 Apr;50(4):1326-30.

doi: 10.1128/JCM.05182-11. Epub 2012 Jan 11. PubMed PMID: 22238440;
PubMed Central PMCID: PMC3318545.

65. Ruiz Contreras J. Vacunas conjugadas frente a neumococo. *Pediatr Integral* [Internet]. 2015 [citado 10 Oct 2018]; XIX (10): [aprox. 24 p.]. Disponible en: https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2015/xix10/04/n10-676-683_JesusRuiz.pdf.

66. Kim C, Song J, Choi S, Song K, Choe P, Park W, et al. Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibilities of Invasive *Streptococcus pneumoniae* Isolates from Adults in Korea from 1997 to 2012. *J Korean Med Sci*. 2016 May;31(5):715-23. doi: 10.3346/jkms.2016.31.5.715. Epub 2016 Mar 29. PubMed PMID: 27134492; PubMed Central PMCID: PMC4835596.

67. Tigoï C, Gatakaa H, Karani A, Mugo D, Kungu S, Wanjiru E, et al. Rates of acquisition of pneumococcal colonization and transmission probabilities, by serotype, among newborn infants in Kilifi District, Kenya. *Clin Infect Dis*. 2012 Jul;55(2):180-8. doi: 10.1093/cid/cis371. Epub 2012 Apr 20. PubMed PMID: 22523268; PubMed Central PMCID: PMC3381638.

68. Soewignjo S, Gessner B, Sutanto A, Steinhoff M, Prijanto M, Nelson C, et al. *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage prevalence, serotype distribution, and resistance patterns among children on Lombok Island, Indonesia. *Clin Infect Dis*. 2001 Apr 1;32(7):1039-43. Epub 2001 Mar 20. PubMed PMID: 11264032.

69. Cohen C, von Mollendorf C, de Gouveia L, Lengana S, Meiring S, Quan V, et al. Effectiveness of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine against invasive pneumococcal disease in South African children: a case-control study. *Lancet Glob Health*. 2017 Mar;5(3):e359-e369. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30043-8. Epub 2017 Jan 28. PubMed PMID: 28139443.
70. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, et al. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*. 2016 Dec 17;388(10063):3027-3035. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31593-8. Epub 2016 Nov 11. Erratum in: *Lancet*. 2017 May 13;389(10082):1884. PubMed PMID: 27839855; PubMed Central PMCID: PMC5161777.
71. Agudelo C, Castañeda E, Corso A, Regueira M, Brandileone M, Brandão A, et al. Resistance to non-beta-lactam antibiotics in the clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* of children in Latin America. SIREVA II, 2000-2005. *Rev Panam Salud Publica*. 2009 Apr;25(4):305-13. Spanish. PubMed PMID: 19531318.
72. Bosch A, Biesbroek G, Trzcinski K, Sanders E, Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog*. 2013 Jan;9(1):e1003057. doi: 10.1371/journal.ppat.1003057. Epub 2013 Jan 10. Review. PubMed PMID: 23326226; PubMed Central PMCID: PMC3542149.
73. Dunne E, Smith H, Robins R, Mulholland E, Satzke C. Nasopharyngeal microbial interactions in the era of pneumococcal conjugate vaccination. *Vaccine*.

2013 May 1;31(19):2333-42. doi:10.1016/j.vaccine.2013.03.024. Epub 2013 Mar 19. Review. PubMed PMID: 23523773.

74. Mosser J, Grant L, Millar E, Weatherholtz R, Jackson D, Beall B, et al. Nasopharyngeal carriage and transmission of *Streptococcus pneumoniae* in American Indian households after a decade of pneumococcal conjugate vaccine use. PLoS One. 2014 Jan 17;9(1):e79578. doi: 10.1371/journal.pone.0079578. eCollection 2014. Erratum in: PLoS One. 2014;9(3):e93878. PubMed PMID: 24465365; PubMed Central PMCID: PMC3894936.

75. Pelton S, Weycker D, Farkouh R, Strutton D, Shea K, Edelsberg J. Risk of pneumococcal disease in children with chronic medical conditions in the era of pneumococcal conjugate vaccine. Clin Infect Dis. 2014 Sep 1;59(5):615-23. doi: 10.1093/cid/ciu348. Epub 2014 May 13. PubMed PMID: 24825867.

76. Bogaert D, De Groot R, Hermans P. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. Lancet Infect Dis. 2004 Mar;4(3):144-54. Review. PubMed PMID: 14998500.

77. Zhou J, Isaacson M, Utterson E, Todd E, McFarland M, Sivapalan J, et al. Prevalence of nasopharyngeal pneumococcal colonization in children and antimicrobial susceptibility profiles of carriage isolates. Int J Infect Dis. 2015 Oct;39:50-52. doi: 10.1016/j.ijid.2015.08.010. Epub 2015 Sep 3. PubMed PMID: 26327122; PubMed Central PMCID: PMC4620696.

78. Mameli C, Fabiano V, Daprai L, Bedogni G, Faccini M, Garlaschi M, et al. A longitudinal study of *streptococcus pneumoniae* carriage in healthy children in

the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine era. *Hum Vaccin Immunother.* 2015;11(4):811-7. doi: 10.1080/21645515.2015.1010945. PubMed PMID: 25751237; PubMed Central PMCID: PMC4514434.

79. Kim Y, LaFon D, Nahm M. Indirect Effects of Pneumococcal Conjugate Vaccines in National Immunization Programs for Children on Adult Pneumococcal Disease. *Infect Chemother.* 2016 Dec;48(4):257-266. doi: 10.3947/ic.2016.48.4.257. Review. PubMed PMID: 28032483; PubMed Central PMCID: PMC5204004.

80. Vila A, Ochoa O, Hospital I, de Diego C, Satué E, Bladé J, et al. Pneumococcal vaccination coverages among low-, intermediate-, and high-risk adults in Catalonia. *Hum Vaccin Immunother.* 2016 Nov;12(11):2953-2958. Epub 2016 Jul 25. PubMed PMID: 27454779; PubMed Central PMCID: PMC5137520.

81. Parra E, De La Hoz F, Díaz P, Sanabria O, Realpe M, Moreno J. Changes in *Streptococcus pneumoniae* serotype distribution in invasive disease and nasopharyngeal carriage after the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine introduction in Bogotá, Colombia. *Vaccine.* 2013 Aug 20;31(37):4033-8. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.04.074. Epub 2013 May 14. PubMed PMID: 23680440.

82. Hammit L, Ojal J, Bashraheil M, Morpeth S, Karani A, Habib A, et al. Immunogenicity, impact on carriage and reactogenicity of 10-valent pneumococcal non-typeable *Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine in Kenyan children aged 1-4 years: a randomized controlled trial. *PLoS One.* 2014

Jan 21;9(1):e85459. doi: 10.1371/journal.pone.0085459. eCollection 2014.
PubMed PMID: 24465570; PubMed Central PMCID: PMC3897448.

83. Ruiz J, Márquez S, Molina J, Grande A. Safety and immunogenicity of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in infants: a meta-analysis. *Vaccine*. 2013 Nov 4;31(46):5349-58. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.09.008. Epub 2013 Sep 19. Review. PubMed PMID: 24055349.

84. Togashi T, Yamaji M, Thompson A, Giardina P, Aizawa M, Patterson S, et al. Immunogenicity and safety of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in healthy infants in Japan. *Pediatr Infect Dis J*. 2013 Sep;32(9):984-9. doi: 10.1097/INF.0b013e318293007e. PubMed PMID: 23538524.

85. McFarland M, Szasz T, Zhou J, Motley K, Sivapalan J, Isaacson-Schmid M, et al. Colonization with 19F and other pneumococcal conjugate vaccine serotypes in children in St. Louis, Missouri, USA. *Vaccine*. 2017 Aug 3;35(34):4389-4395. doi:10.1016/j.vaccine.2017.06.047. Epub 2017 Jul 4. PubMed PMID: 28687405; PubMed Central PMCID: PMC5576556.

86. Castañeda E, Agudelo C, De Antonio R, Rosselli D, Calderón C, Ortega E, et al. *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in Latin America and the Caribbean: a systematic review and meta-analysis, 1990-2010. *BMC Infect Dis*. 2012 May 28;12:124. doi: 10.1186/1471-2334-12-124. Review. PubMed PMID: 22639955; PubMed Central PMCID: PMC3475047.

87. Lee J, Yun K, Choi E, Kim S, Lee S, Lee H. Changes in the Serotype Distribution among Antibiotic Resistant Carriage *Streptococcus pneumoniae*

Isolates in Children after the Introduction of the Extended-Valency Pneumococcal Conjugate Vaccine. *J Korean Med Sci.* 2017 Sep;32(9):1431-1439. doi: 10.3346/jkms.2017.32.9.1431. PubMed PMID: 28776337; PubMed Central PMCID: PMC5546961.

88. Moore M, Link R, Schaffner W, Lynfield R, Lexau C, Bennett N, et al. Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance. *Lancet Infect Dis.* 2015 Mar;15(3):301-9. doi: 10.1016/S1473-3099(14)71081-3. Epub 2015 Feb 3. PubMed PMID: 25656600; PubMed Central PMCID: PMC4876855.

89. Hsu H, Shutt K, Moore M, Beall B, Bennett N, Craig A, et al. Effect of pneumococcal conjugate vaccine on pneumococcal meningitis. *N Engl J Med.* 2009 Jan 15;360(3):244-56. doi: 10.1056/NEJMoa0800836. PubMed PMID: 19144940; PubMed Central PMCID: PMC4663990.

90. Gounder P, Bruce M, Bruden D, Singleton R, Rudolph K, Hurlburt D, et al. Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*--Alaska, 2008-2012. *J Infect Dis.* 2014 Apr 15;209(8):1251-8. doi: 10.1093/infdis/jit642. Epub 2013 Nov 23. PubMed PMID: 24273178; PubMed Central PMCID: PMC4562407.

91. Harboe Z, Dalby T, Weinberger D, Benfield T, Mølbak K, Slotved H, et al. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in invasive pneumococcal disease incidence and mortality. *Clin Infect Dis.* 2014 Oct

15;59(8):1066-73. doi: 10.1093/cid/ciu524. Epub 2014 Jul 16. Erratum in: Clin Infect Dis. 2014 Dec 15;59(12):1812. PubMed PMID: 25034421.

92. Yildirim I, Shea K, Pelton S. Pneumococcal Disease in the Era of Pneumococcal Conjugate Vaccine. Infect Dis Clin North Am. 2015 Dec;29(4):679-97. doi: 10.1016/j.idc.2015.07.009. Review. PubMed PMID: 26610421; PubMed Central PMCID: PMC4662776.

93. Linares N, Toledo M, Casanova M, Paredes B, Valdés Y, Santana D, et al. La nueva vacuna cubana antineumocócica, de las evidencias científicas disponibles, a la estrategia de evaluación clínica y de impacto. Rev Cubana Pediatr [Internet]. 2017 [citado 15 Mar 2018];89(Suppl1): [aprox. 17 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312017000500018&lng=es

94. Linares N. Introducción de la vacunación antineumocócica, un proyecto conjunto de la Biotecnología y el Sistema de Salud Cubano. Rev Cubana Pediatr [Internet]. 2017 [citado 15 Mar 2018];89(Suppl 1): [aprox. 24 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312017000500001&lng=es

95. Bryant K, Frenck R, Gurtman A, Rubino J, Treanor J, Thompson A, et al. Immunogenicity and safety of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in adults 18-49 years of age, naive to 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. Vaccine. 2015 Oct 26;33(43):5854-5860. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.08.080. Epub 2015 Sep 9. PubMed PMID: 26362099.

96. Linares N, Toledo M, Santana D, García A, García D, Valdés Y, et al. From individual to herd protection with pneumococcal vaccines: the contribution of the Cuban pneumococcal conjugate vaccine implementation strategy. *Int J Infect Dis.* 2017 Jul; 60:98-102. doi: 10.1016/j.ijid.2017.03.011. Epub 2017 Apr 28. PubMed PMID: 28457742.

ANEXOS.

Anexo 1. Encuesta para los estudios de colonización nasofaríngea prevacunación

Datos Generales:

1. Nombre del policlínico: _____
2. Área de salud: _____
3. Consejo Popular: _____
4. Consultorio: _____

Datos del niño participante:

5. Nombres y apellidos: _____
6. Iniciales del niño: |_|_|_|_|_|_|
7. Código del niño: |_|_|_|_|_|_|
8. Fecha de nacimiento: |_|_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| (dd/mm/aa)
9. Edad: |_|_|_| (meses)
10. Sexo: Femenino Masculino
11. No. Tarjeta de menor: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|
12. Domicilio: _____
13. Área geográfica: Urbano Rural suburbano

Características del parto:

14. Fisiológico (eutócico) distócico (Cesárea)
15. Con cuantas semanas el niño nació _____
16. No sabe _____
17. No responde _____

Perinatales:

18. Peso al nacer _____
- 18.1 Apgar al nacer _____

Postnatales:

19. ¿El niño estuvo ingresado en los servicios de neonatología? Si _____ No _____
20. Causa del ingreso _____
21. ¿Necesitó ventilación mecánica? Si _____ No _____

Datos sobre ablactación:

22. Recibe o recibió lactancia materna exclusiva no materna mixta
23. Cuántos meses lleva recibiendo o recibió lactancia materna exclusiva _____
(número de meses)

Medicamentos que toma el niño:

24. Recibió o recibe suplementos vitamínicos Si _____ No _____
 - a. qué tiempo lleva recibiendo ____ (# meses)

25. Recibió o recibe inmunomoduladores (gammaglobulinas, factor transferencia, inmunofeón, levamisol) Si_____ No_____

26. Otros

Antecedentes patológicos personales:

27. Sabe usted si el niño presenta alguno de los problemas de salud que se relacionan a continuación:

a. Enfermedad crónica de los pulmones (bronquitis, asma, enfisema, etc.) Si_ No__

b. Diabetes mellitus Si_____ No_____

c. Malformación congénita del corazón Si_____ No_____

d. Cáncer o tumor maligno Si_____ No_____

e. Bajo nivel de las defensas a causa de: Si_____ No_____

i. Malnutrición

ii. Bajo peso al nacer

iii. Prolongado uso de corticoesteroides

iv. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida

f. Obesidad

g. Enfermedad renal crónica o diálisis

h. Otras enfermedades (especifique) _____

Ha presentado algún episodio o cuadro de Infección Respiratoria:

28. En los últimos 12 meses el niño(a) ha tenido:

A. Fiebre

B. Tos

C. Dolor de garganta

D. Otagia o dolor de oído (irritabilidad, frota o tira de la oreja)

E. Otorrea o secreción en oído

F. Diagnóstico de otitis media aguda

G. Dificultad para respirar

H. Hospitalizado por problemas respiratorios

I. Diagnóstico de neumonía

J. Diagnóstico de meningitis

29. ¿Ha tenido algún episodio o cuadro respiratorio en los últimos 12 meses?
Si_____ No_____

a. Cuántos ____ (# de episodios)

Ahora, hablemos sobre el último o más reciente episodio o cuadro respiratorio presentado:

30. ¿En qué mes fue el último episodio o cuadro respiratorio presentado?

a. Mes _____

31. ¿Requirió atención médica durante el último cuadro o episodio respiratorio? Si___ No___
32. ¿Cuántos días trascurrieron entre el inicio de los síntomas del último cuadro respiratorio y el momento que recibió atención médica?
- a. Días ___ (# de días)
33. Durante el último episodio o cuadro respiratorio el niño(a) presentó:
- a. Fiebre Cuantos días: ___ # días
- b. Dolor de oído (irritabilidad, frota o tira de la oreja)
- c. Secreción en oído u otorrea
- d. Náuseas y vómitos
- e. Rinorrea o secreción nasal
- f. Adenopatías o ganglios inflamados
- g. Algún diagnóstico específico _____
34. Usó antibióticos durante el último episodio o cuadro respiratorio presentado: Si___ No___
35. La atención médica recibida por el último cuadro respiratorio fue en el consultorio o el policlínico (atención ambulatoria) Si___ No___
- a. Si no tuvo atención médica, podría señalar la principal razón de esta NO atención:
- i. Automedicación en casa
- ii. No fue necesario, no se veía muy enfermo
- iii. Alguna creencia religiosa
- iv. Alguna otra razón (especifique): _____
36. Ha requerido hospitalización por infección respiratoria en los últimos 12 meses Si___ No___
- a. ¿Cuántas? ___ (# de hospitalizaciones)
37. En el último año o más reciente hospitalización por infección respiratoria:
- a. edad (meses) en el momento del ingreso en el hospital___
- b. ¿Sabe si la hospitalización fue debido a una neumonía? Si___ No___
- c. ¿Sabe si la hospitalización fue debido a una meningitis? Si___ No___
- d. Conoce el diagnóstico por el que fue ingresado u hospitalizado _____
38. ¿La hospitalización por infección respiratoria fue en el Hospital Pediátrico Provincial?
- a. ¿Cuántos días estuvo hospitalizado?
39. Sabe si durante la hospitalización por infección respiratoria, el niño(a) presentó:
- a. Fiebre mayor de 39°C Cuantos días: ___ # días
- b. Mal estado general
- c. Tiraje o dificultad para respirar
- d. Polipnea o incremento de la frecuencia respiratoria

- e. Dolor abdominal y/o torácico
- f. Meningismo
- 40. ¿Usó antibióticos durante la hospitalización? Si___ No___
 - a. Durante 7 días Si___ No___
 - b. entre 8 a 15 días Si___ No___
 - c. entre 16 a 30 días Si___ No___
- 41. Nombre del o de los antibióticos usados: _____

Aspectos sociales:

- 42. ¿Asiste el niño a círculo infantil? Si___ No___
- 43. ¿Asiste el niño a casa de cuidadora? Si___ No___
- 44. Lo cuidan en su casa Si___ No___
 - a. Con cuántos niños convive donde lo cuidan ____ (# de niños)
- 45. Cuántas personas conviven con el niño en su casa ____ (# de personas)
 - a. De ellas, ¿cuántas son?:
 - i. menores de 5 años ____
 - ii. entre 6-11____
 - iii. de 12-17 años ____
 - iv. entre 18 años y 64 años ____
 - v. Mayor de 65 años
- 46. ¿Cuántas habitaciones para dormir tiene la casa?: _____
- 47. El niño comparte su habitación Si___ No___
 - a. ¿Con quién comparte habitación?
 - i. con los padres
 - ii. otros niños
 - iii. abuelos
 - iv. otros parientes o familiares
 - v. tiene habitación propia
- 48. ¿Duerme con sus padres en la misma cama? Si___ No___
- 49. Escolaridad de la madre _____
- 50. Nivel de escolaridad del padre _____
- 51. Entre las personas que viven con el niño alguien fuma:
 - i. la madre
 - ii. el padre
 - iii. otro conviviente

Anexo 2. Encuesta para el estudio de cambios en la colonización nasofaríngea asociados a la vacunación con PCVs.

Datos de identificación del niño de 1 a 5 años vacunado

Nombre y Apellidos: _____

Edad: ____ (meses) ____ (años)

Sexo: ____ Femenino ____ Masculino

Fecha de nacimiento: __/__/____

Zona de procedencia: ____ urbano ____ suburbano ____ rural

Dirección particular: _____

No. Tarjeta de menor: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Consejo popular: _____

Área de Salud o Policlínico: _____ CMF: _____

1. Características generales de los miembros del hogar:

Dígame la edad de los miembros de su hogar:

Alguien del hogar además del niño estudiado, ¿ha recibido vacuna contra neumococos en el último año?

En el último mes ¿algún miembro de la familia padeció de alguna enfermedad respiratoria aguda? Si ____ No ____

En el último año ¿algún miembro de la familia enfermo de neumonía? Si ____ No ____

En el último año ¿algún miembro de la familia enfermo de meningitis? Si ____ No ____

En el último año, ¿algún miembro de la familia requirió hospitalización por cualquier causa? Si ____ No ____

El niño estudiado asiste a:

- a. a la escuela
- b. Círculo Infantil
- c. Cuidador particular
- d. No asiste

Para el conviviente en el hogar menor de 1 año:

Datos de identificación del menor de un año conviviente de niño de 1 a 5 años en el hogar:

Nombre y Apellidos: _____

Edad: ____ (meses)

Sexo: ____ M ____ F

Fecha de nacimiento: __/__/____

Color de la piel: ____ Blanca ____ Negro ____ Mestiza

No. Tarjeta de menor: |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Parentesco con el niño de 1 a 5 años:

1. Hermano
2. Otro familiar _____

Características generales de la persona a cargo de los cuidados del niño 1 a 5 años:

¿Quién está a cargo del cuidado del niño de 1-5 años? _____

¿Cuántas habitaciones se usan exclusivamente como dormitorio?

Factores de riesgo de los convivientes del hogar del niño de 1-5 años

15. ¿Cuántas personas duermen en la misma habitación del niño estudiado: ___

16. ¿Quiénes duermen en la misma habitación?

1. los padres
2. abuelos
3. hermanos
4. otros niños
5. otros parientes o familiares
6. tiene habitación propia

17. ¿En esta casa hay personas que fuman dentro del hogar? Si___ No___

Antecedentes de enfermedad y otros factores riesgo del niño de 1 a 5 años:

18. El niño de 1 a 5 años estudiado ha presentado episodios de infección respiratoria a repetición en los últimos 12 meses:

1. < 5 episodios
2. 6-8 episodios
3. > 8 episodios

19. ¿recibió o recibe suplementos vitamínicos? Si___ No___

19.1 ¿qué tiempo lleva recibiendo suplementos vitamínicos? ___ (# meses)

20. ¿recibió o recibe inmunomoduladores (gammaglobulinas, factor transferencia, inmoferón, levamisol)? Si___ No___

21. ¿Recibió o recibe antibióticos en los últimos 2 meses?:

21.1 ¿Cuáles?: 1. _____ Días de consumo: _____

22. ¿Asiste al menos 2 días por semana a:

1. círculo infantil
2. casa cuidadora particular
3. casa de algún familiar donde lo cuidan

22.2 ¿A qué edad comenzó a asistir al círculo infantil o casa particular?

Enfermedad reciente del niño de 1 a 5 años

23. ¿Ha requerido hospitalización por infección respiratoria u otra enfermedad en los últimos 12 meses? Si___ No___

23.1 ¿Cuántas hospitalizaciones? ___

23.2 Sabe si la hospitalización fue debido a:

1. Neumonía

2. Meningitis
 3. Otitis Media Aguda
 4. Infección generalizada (Sepsis)
 5. Otra causa: _____ (escribir diagnóstico)
- 23.4 ¿Cuántos días estuvo hospitalizado? _____ (# de días)
- 23.5 ¿Usó antibióticos durante la hospitalización? Si__No__
- 23.6 ¿Durante cuánto tiempo uso antibióticos?
1. Menos de 7 días
 2. Durante 7 días
 2. entre 8 a 15 días
 3. entre 16 a 30 días
- 23.7 ¿Conoce el nombre del o de los antibióticos usados?
24. ¿presentó algún episodio o cuadro respiratorio u otra enfermedad en los últimos 30 días? Si__No__
- 24.1 Sabe si la enfermedad fue debido a:
1. Neumonía
 2. Meningitis
 3. Otitis Media Aguda
 4. Sepsis
 5. Otra causa: _____ (escribir diagnóstico)
- 24.2 ¿Requirió atención médica durante el último cuadro o episodio respiratorio? Si__No__
- 24.3 La atención médica recibida por el último cuadro respiratorio fue en el consultorio o el policlínico o ingreso en el hogar (atención ambulatoria) Si__No__
25. ¿Ha presentado alguna infección respiratoria aguda en los últimos 7 días? Si_ No__

Anexo 3. Consentimiento informado: Prevalencia de colonización nasofaríngea prevacunación en el grupo de 2 a 18 meses.

Streptococcus pneumoniae o neumococo, es una bacteria que habita en la nariz y garganta de los seres humanos y es una de las principales causas de enfermedad (neumonía, meningitis y otras) y muerte en niños menores de cinco años. Cuba ha desarrollado un candidato vacunal contra esta bacteria para incorporarla en el programa nacional de vacunación, el cual ha pasado las primeras fases de evaluación de seguridad en adultos y niños preescolares, y se mantiene actualmente en evaluación clínica.

La vacunación contra neumococo en el país permitirá proteger a los niños contra las infecciones graves causadas por esta bacteria, e impedirá también que la bacteria se aloje en la garganta de las personas vacunadas, disminuyendo así el riesgo de contagio para el resto de la población.

Como parte de las medidas de prevención de la infección y para evaluar el impacto que tendrá la introducción de la vacunación contra neumococo en Cuba, es necesario desarrollar programas de vigilancia epidemiológica que permitan conocer la distribución de la bacteria en la población. Para esto es necesario determinar la presencia del neumococo en la garganta de niños antes de que hayan recibido la vacuna. Para ello estamos realizando este estudio exploratorio, que permitirá determinar la prevalencia de colonización nasofaríngea de *Streptococcus pneumoniae* en niños entre 2 y 18 meses de edad en el municipio de Cienfuegos.

Queremos invitarlo(a) a participar en este estudio, permitiéndonos tomar una muestra nasofaríngea de su hijo/hija mediante un exudado nasofaríngeo. La decisión de participar es completamente voluntaria y requiere la autorización libre e informada de la madre, el padre o tutor de cada niño.

Para la toma de muestra, se va a introducir suavemente en la nariz del niño un hisopo blando, flexible y delgado con el propósito de tomar una muestra de las secreciones que se encuentran en el fondo de la nariz.

Riesgos y beneficios del estudio. El procedimiento causa una ligera molestia local, no representa ningún riesgo para el niño y será realizado únicamente por un personal entrenado. El beneficio que le aportará este estudio al niño es que al término del mismo, usted conocerá si su hijo es portador de neumococo en la nasofaringe, sin que esta constituya una condición patológica. Adicionalmente, la información generada en el

estudio permitirá evaluar el efecto que tendrá en el país la vacunación contra neumococo.

Derechos de los participantes: La participación es completamente libre y voluntaria. Una vez firmado el consentimiento informado, el representante legal aquí suscrito podrá retirar al niño del estudio en cualquier momento sin que por ello se creen perjuicios para él. No se identificará públicamente al niño del cual se tomó la muestra y se mantendrá la confidencialidad de la información. Sólo el personal a cargo del estudio y el Comité de Ética de Investigación que lo supervisa podrán tener acceso a sus datos personales. Igualmente, se dará en cualquier momento 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.

Si requiere información adicional, puede dirigirse a:

Investigadores	Teléfono

Al entender el presente documento doy autorización para la participación de mi hijo _____ en el presente estudio de investigación.

Firma, en constancia, quien ejerce la patria potestad o la representación legal del menor:

Nombre de la madre, padre o tutor	Parentesco: Madre <input type="checkbox"/> Padre <input type="checkbox"/> Tutor <input type="checkbox"/>
Firma	Dirección, teléfono:
Fecha. _ _ / _ _ / _ _	

Nombre del profesional que toma el consentimiento informado:	
Firma	Dirección, teléfono
Fecha. _ _ / _ _ / _ _	

Anexo 4. Consentimiento informado: Evaluación de los cambios en la colonización nasofaríngea asociados a la administración de PCVs.

Entrevistador: Solicitar consentimiento informado. Le comentaré los objetivos, los riesgos, beneficios y derechos al participar en el estudio.

Explicación para el Consentimiento Informado

Al entender los objetivos del presente estudio con base en la información explicada doy autorización para la participación de mi hijo 1-5 años y mi familia en el presente estudio de investigación.

Firma, en constancia:

Nombre de la madre y/o jefe del Hogar	Nombre del entrevistador
Firma	Firma
Fecha. _ _ / _ _ / _ _	Fecha. _ _ / _ _ / _ _

PUBLICACIONES DEL AUTOR

Publicaciones del autor incluidas en la tesis

1. Toledo M, Casanova M, Linares N, García D, Toraño G, Barcos I, Montes de Oca M, Rodríguez L, Mirabal M, Paredes B, **Chávez D**, Santana D, Valdés Y, Verez V. Prevalence of pneumococcal nasopharyngeal carriage among children 2-18 Months of age: baseline study pre introduction of pneumococcal Vaccination in Cuba. *Pediatr Infect Dis J.* 2017; 36 (1): e22-e28.
2. Toledo M, **Chávez D**, Casanova M, Toraño G, Linares N. Colonización nasofaríngea por neumococos en la población infantil cubana, evidencias basadas en estudios de prevalencia. *Rev cubana de Pediat* 2017; 89(0) Disponible en: <http://www.revpediatria.sld.cu/index.php/ped/article/view/197>
3. **Chavez D**, Casanova M, Toledo M, Linares N, Toraño G. Prevalencia de la colonización nasofaríngea por neumococo en niños preescolares en Cienfuegos. 2014-2015. *Medisur* [revista en Internet]. 2018; 16(3). Disponible en: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/3779>
4. **Chavez D**, Casanova M, Capote J. La vacunación antineumocócica en Cuba. Retos y desafíos. *Medisur* [revista en Internet]. 2019; 17(2) Disponible en: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/3779>
5. **Chavez D**, Linares N, Casanova M, Toledo M, Rodríguez N, Mirabal M, Toraño G, García D, Valdés Y, Verez V. Cambios en la colonización nasofaríngea por *Streptococcus pneumoniae* en niños cubanos vacunados con vacunas conjugadas antineumocócicas. *Vacunas.* 2019. <https://doi.org/10.1016/j.vacun.2019.04.001>

Presentación en eventos científicos

1. XXVIII Congreso nacional de Pediatría, enero 2018. Ponente: Prevalencia de colonización nasofaríngea por neumococo en niños de 1 a 5 años institucionalizados en Cienfuegos.
2. VII Simposio internacional de terapia intensiva, neonatal y pediátrica, enero 2018. Ponente: Colonización nasofaríngea por neumococo en niños preescolares en Cienfuegos.
3. II Simposio internacional de puericultura, enero 2018. Ponente: Comportamiento de colonización nasofaríngea por neumococo en niños institucionalizados en Cienfuegos
4. III Convención internacional de Salud Pública, Cuba Salud 2018. Ponente: Prevalencia de la colonización nasofaríngea por neumococo en niños sanos de Cienfuegos
5. X Encuentro internacional "Presencia de Pablo Freire", Cienfuegos mayo 2018. Ponente: Colonización nasofaríngea por neumococo. Una variable de impacto poblacional.
6. X Encuentro internacional "Presencia de Pablo Freire", Cienfuegos mayo 2018. Ponente: Cambios en la colonización nasofaríngea asociados a la vacunación antineumocócica en preescolares vacunados.
7. II Congreso internacional en ciencias de la salud "Salud y género", Cienfuegos mayo 2018. Ponente: 1) Colonización nasofaríngea por neumococo en preescolares en la era prevacunal. Cienfuegos 2013-15.

8. VII Encuentro hispano cubano en ciencias de la salud "Salud y género", Cienfuegos mayo 2018. Ponente: Efecto de la vacuna cubana contra el neumococo sobre la colonización nasofaríngea. Cienfuegos 2016-17.