

# **Inmunoepidemiología y Estrategias de Vacunación**

**Rolando Felipe Ochoa Azze MD, PhD**



**Ciudad de La Habana, 2007**

Edición al cuidado de: Lic. Orlando Gutiérrez López  
Redacción y corrección: Lic. Virginia Betancourt López  
Diseño de Cubierta: Lic. Roberto Chávez Miranda

Primera edición, 2005 (versión electrónica)  
Segunda edición, 2007 (versión electrónica-impresa)  
Disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/publicaciones.htm>

© Rolando Felipe Ochoa Azze MD, PhD  
© Sobre la presente edición  
Finlay Ediciones, 2007

**ISBN: 978-959-7076-16-2**

FINLAY EDICIONES  
Ave. 212 No. 3112 e/ 31 y 37,  
La Coronela, La Lisa,  
Ciudad de La Habana, Cuba  
Web: [www.finlay.sld.cu/ediciones.htm](http://www.finlay.sld.cu/ediciones.htm)

**A mi hermana Sarita**

## Agradecimientos

Quisiera agradecer a la Doctora María de los Angeles Peña Machado por la revisión exhaustiva de los diferentes temas y sus oportunas sugerencias; al Doctor Antonio González Griego, pionero de la inmunoepidemiología en Cuba, por sus enseñanzas; al Doctor Miguel Galindo Sardiñas, artífice de la vacunación; a la Licenciada Virginia Betancourt López en la conducción del proceso de redacción y corrección y al Licenciado Orlando Gutiérrez López por el apoyo brindado para la publicación de este libro y el cuidado de la edición.

# Contenido

## **PRÓLOGO**

## **CAPÍTULO 1**

La inmunoepidemiología. Objeto de estudio / 1

## **CAPÍTULO 2**

Bosquejo del sistema inmune en la defensa frente a las infecciones / 5

## **CAPÍTULO 3**

Vacunas. Desarrollo actual y tendencias / 24

## **CAPÍTULO 4**

Papel del medio ambiente en la inmunoepidemiología / 31

## **CAPÍTULO 5**

Principales técnicas de laboratorio para explorar la inmunidad poblacional / 39

## **CAPÍTULO 6**

Importancia de la inmunoepidemiología en la vacunología/ 49

## **CAPÍTULO 7**

Estrategias de vacunación. La experiencia cubana / 58

## **BIBLIOGRAFÍA / 67**

## Prólogo

**L**a inmunoepidemiología es una disciplina integradora, en pleno auge, que valora la individualidad de la respuesta inmune en la conformación de la inmunidad poblacional, esencial en el proceso de salud–enfermedad ante la exposición al agente infeccioso. Igualmente, es imprescindible en los sistemas modernos de vigilancia y en la definición de las estrategias de vacunación que deben seguirse, acorde con las particularidades de una población dada.

Con esta obra pretendemos aumentar el conocimiento sobre esta nueva materia, en ocasiones no bien comprendida y subestimada en el campo de la vacunología.

Hemos incluido aquellos aspectos básicos del sistema inmune y las principales técnicas de laboratorio, que son necesarias para los objetivos propuestos. También abordamos el desarrollo de vacunas, así como aquellos tópicos de mayor interés del medio ambiente y de la emergencia y reemergencia de enfermedades, entre otros temas relacionados de una u otra forma con la inmunoepidemiología.

Consideramos que este libro pudiera ser útil, no sólo a los profesionales que trabajan en este campo, sino a otros especialistas y estudiantes interesados en algunos de los aspectos que en el mismo se abordan. Si así fuera, nos sentiríamos satisfechos.

*Dr. Rolando Felipe Ochoa Azze*

# Capítulo 1

## La inmunoepidemiología. Objeto de estudio

### Inmunología. Lo individual

La inmunología constituye una rama relativamente joven de la ciencia. Su desarrollo está íntimamente relacionado con las observaciones realizadas durante el curso de la investigación activa sobre la bacteriología y enfermedades infecciosas. Durante muchos años la inmunología fue estudiada como parte de la microbiología y el progreso en este campo consistió fundamentalmente en su aplicación al diagnóstico y control de las enfermedades infecciosas.

El término inmunidad deriva de la palabra latina *immunitas*, y hace referencia a la exención de diversas obligaciones civiles y procesamientos legales ofrecidos a los senadores romanos durante el desempeño de sus cargos. Desde el punto de vista biológico, inmunidad significaba en sus orígenes protección frente a la enfermedad y, más específicamente, frente a la enfermedad infecciosa. Una definición más completa considera a la inmunidad como el conjunto de mecanismos que permiten reconocer, neutralizar y eliminar sustancias identificadas como ajenas o extrañas al organismo.

Puede considerarse que el nacimiento de la inmunología como ciencia data de 1796, a partir de la exitosa vacunación contra la viruela llevada a cabo por Edward Jenner. Este eminente científico observó que las personas que se curaban después de alguna infección con la viruela de la vaca (*vaccinia*), quedaban protegidas contra la viruela del hombre. Jenner introdujo la práctica de inocular el contenido de las lesiones vesiculares de *vaccinia* para proteger contra la viruela humana. Al material usado lo denominó “vaccine” (vacuna) y al proceso “vaccination” (vacunación) que fue introducido para reemplazar el término variolización.

El siglo XX pasará a la historia, entre otras cosas, por el tremendo impulso desarrollado en el campo de la vacunología. En 1901 existían pocas vacunas capaces de prevenir las enfermedades infecciosas. A finales de siglo, ya había vacunas para al menos 21 enfermedades. El siglo XXI es promisorio, se espera que la secuenciación genética conduzca a una nueva generación de vacunas, de

Dr. Rolando Ochoa Azze

manera similar a lo que aportaron en su momento las entonces novedosas técnicas de cultivo de tejidos, base de las vacunas de los años 1950, y la tecnología del ADN recombinante que permitió acceder a las vacunas obtenidas por ingeniería genética a finales de la década de 1980. Se prevén, además, avances notables tanto en la combinación de vacunas como en los métodos de distribución.

La inmunología que nació como ciencia estrechamente relacionada con la vacunología, es la disciplina que rige su desarrollo, definiendo no sólo los inmunógenos vacunales que deben ser empleados, sino las características de la respuesta inmune que se quiera inducir, en un contexto poblacional, para una prevención más eficaz de las enfermedades.

### **Epidemiología. Un enfoque poblacional**

La epidemiología investiga la distribución y las causas de las enfermedades y otros procesos relacionados con la salud. La información epidemiológica es utilizada para planificar y evaluar las estrategias para la prevención de enfermedades, así como una guía para el manejo de los pacientes.

Una función clave de la epidemiología es evaluar la incidencia de enfermedad en una población con prácticas o condiciones de riesgo.

La vigilancia sistemática de la incidencia de las enfermedades es otra importante tarea de la epidemiología. Esta información es necesaria para valorar el comportamiento de las entidades sujetas a la vigilancia y estimar la efectividad de las medidas de control. Hoy en día se prefiere emplear el término de vigilancia en salud, definida como el seguimiento, recolección sistemática, análisis e interpretación de datos sobre eventos de salud o condiciones relacionadas; para ser utilizados en la planificación, aplicación y evaluación de los programas de salud pública que incluye como elementos básicos la disseminación de dicha información a los que necesitan conocerla, para lograr una acción de prevención y control más efectiva y dinámica en los diferentes niveles de intervención.

Las enfermedades susceptibles de vigilancia son aquellas que constituyen un problema de salud pública por su alta prevalencia, incidencia o mortalidad, para las que se disponen formas preventivas o posibilidades de tratamiento adecuado que estén al alcance de los servicios de salud. Entre estas se destacan las enfermedades transmisibles, con mecanismos de control mediados por la vacunación.

La vigilancia puede ser activa o pasiva. La pasiva es cuando la información se obtiene directamente de los registros ya establecidos. La activa es cuando el especialista ejecuta directamente la búsqueda de la información específica objeto de la vigilancia, la cual tiene interés particular para las enfermedades inmunoprevenibles.

### **Inmunoepidemiología. Disciplina integradora**

La inmunoepidemiología no es una simple unión formal entre la inmunología y la epidemiología, la primera enfocada al estudio de la inmunidad y la segunda orientada fundamentalmente hacia poblaciones más bien que a los individuos.

La inmunoepidemiología, que incluye la seroepidemiología como una subdisciplina, está orientada a la vigilancia de las enfermedades e investiga la influencia de la inmunidad poblacional sobre diferentes patrones epidemiológicos. El chequeo de esta inmunidad a intervalos regulares permite la estimación del impacto social, médico y económico de las enfermedades, sobre todo las infecciosas, la planificación y evaluación de los programas de intervención, el reconocimiento rápido y la investigación de las enfermedades emergentes, así como el descubrimiento de genotipos resistentes a los mecanismos inmunes.

Esta nueva disciplina, aunque surgió de los estudios sobre infecciones parasitarias, se ha extendido al estudio del comportamiento de la inmunidad ante diferentes microorganismos, así como hacia las enfermedades no transmisibles. Sin embargo, la inmunoepidemiología es especialmente útil para la evaluación y el control de las enfermedades prevenibles por vacunas.

La inmunidad poblacional ante un agente biológico en particular es un importante factor a tener en cuenta para evaluar el comportamiento de una enfermedad infecciosa. Otros factores incluyen la vía de transmisión, el genotipo del agente y su patogenicidad, incluyendo la evasión de los mecanismos inmunes. Por otra parte, la inmunidad depende en gran medida de la composición genética de la población, sus condiciones socioeconómicas, historias previas de infecciones, así como la existencia o no de eficaces programas de vacunación.

Para el desarrollo de esta disciplina es importante saber los mecanismos celulares y moleculares relacionados con la infección, que permitan reconocer la inmunidad adquirida por la vacunación o la existente en individuos recuperados, así como los mediadores de la respuesta inmune presentes en la

Dr. Rolando Ochoa Azze

fase aguda de la enfermedad. También es necesario tener en cuenta las características de la infección, entre las que se destacan la intensidad del estímulo inmunogénico, la vía de transmisión, la mezcla o no de genotipos y la presencia o no de reactividad cruzada y competencia entre diferentes cepas. La inmunidad poblacional depende de la individual, de ahí que sea necesario definir los marcadores inmunológicos apropiados que se correlacionen con la protección o con la reducción de la infectividad del microorganismo o su transmisión. Para ello, es necesario comprender detalladamente la relación causa–efecto entre los mecanismos de defensa del hospedero y la infección producida por un agente biológico.

Los estudios inmunoepidemiológicos pueden ser transversales o longitudinales; los primeros son útiles para evaluar la inmunidad inducida por vacunación, así como por infecciones bacterianas o virales en las que la presencia de anticuerpos indiquen infección pasada y recuperación. Sin embargo, en el caso de infecciones parasitarias se sugiere el empleo de estudios longitudinales, teniendo en cuenta su persistencia, sus bajos niveles de inmunidad y la variación antigénica que modifica la respuesta inmune. Los estudios longitudinales son también útiles en la evaluación de infecciones por otros agentes infecciosos con características similares a las descritas, así como para la predicción de la duración de la inmunidad inducida de forma natural o artificial.

La inmunoepidemiología depende en gran medida del desarrollo y el empleo de métodos matemáticos y estadísticos complejos, ya que el sistema inmune se comporta habitualmente de forma no-lineal y con distribuciones no-Gaussianas, acentuado por múltiples efectos de interacción entre los propios elementos del sistema, el agente biológico y el medio ambiente.

Mediante la combinación de la inmunología y la epidemiología se puede estimar el papel real de la inmunidad en la prevención de enfermedades, distinguir entre la exposición al agente infeccioso y la enfermedad, así como explicar su comportamiento epidemiológico.

Una minuciosa comprensión de la inmunidad adquirida por vacunas o por la infección, así como de las implicaciones sobre la cadena de transmisión y los mecanismos de resistencia contra los efectores del sistema inmune es importante para la planificación de programas efectivos de intervención.

## Capítulo 2

### **Bosquejo del sistema inmune en la defensa frente a las infecciones**

La evolución de una enfermedad infecciosa en un individuo implica una serie de interacciones complejas entre el microorganismo y el hospedero. Los acontecimientos más relevantes son:

- Entrada del agente infeccioso, invasión y colonización de los tejidos del hospedero.
- Supervivencia o no del microorganismo según su resistencia a los mecanismos de defensa.
- Posible daño tisular y deterioro funcional, inducidos por el agente infeccioso o la propia respuesta del hospedero.

La capacidad de resistir la infección depende del correcto funcionamiento e interdependencia de una serie de sistemas, que actúan coordinadamente como un conjunto integral de defensa.

Los mecanismos de defensa pueden ser inespecíficos o específicos. Los inespecíficos, como su nombre lo indica, no poseen efectores particulares y diferenciales para cada elemento extraño, y carecen, además, de memoria, evidenciada por el hecho de que no se modifica cualitativamente la reacción ante exposiciones ulteriores del mismo agente.

#### **Mecanismos inespecíficos: primeras líneas de defensa**

La piel y las membranas mucosas constituyen la primera línea de defensa, estas impiden la penetración de los microorganismos al establecer reales barreras físicas, incluyendo el adecuado funcionamiento de los epitelios ciliados y la presencia del mucus que atrapa las partículas y evita se acerquen a las membranas; además mediante barreras químicas, tales como la presencia de ácidos grasos en la piel, enzimas como la lisozima en mucosas, un bajo pH, y la presencia de una flora normal que interfiere con el crecimiento de agentes patógenos.

Aquellos microorganismos que superan la primera línea de defensa tienen que enfrentar la respuesta inflamatoria, segunda línea de defensa, que incluye

Dr. Rolando Ochoa Azze

fenómenos vasculares y celulares. Los fagocitos, fundamentalmente neutrófilos y macrófagos, desempeñan un papel vital en la destrucción de los microorganismos. Las células naturales asesinas son capaces de reconocer las alteraciones de membranas producidas por la infección y proceder a la destrucción celular. Además de estas defensas celulares existen factores solubles, entre los que se destacan los mecanismos mediados por los interferones tipo I, las proteínas de fase aguda, como la proteína C reactiva que facilita el proceso de opsonización y ulterior fagocitosis, así como la activación de la vía alterna del complemento.

### **Mecanismos específicos de defensa**

Estos mecanismos forman la tercera y última línea defensiva; constituyen la inmunidad propiamente dicha, tal y como la definimos en el capítulo anterior.

Antes de describir las propiedades de la respuesta inmune, definiremos someramente los siguientes conceptos: inmunógeno es cualquier sustancia capaz de inducir una respuesta inmunitaria y antígenos son aquellas capaces de unirse específicamente a un efector de esta respuesta, sin que necesariamente tengan capacidad inmunogénica.

El factor fundamental que influye sobre la inmunogenicidad de una sustancia, es precisamente el carácter de ajeno o no propio para un sistema inmune dado, son también importantes su naturaleza y grado de complejidad química, la vía de entrada al hospedero, su concentración y por supuesto la constitución genética del hospedero.

### **Propiedades de la respuesta inmune**

La respuesta inmune se caracteriza porque no sólo distingue lo propio de lo ajeno, sino que sus efectores son específicos para el agente extraño, la respuesta es heterogénea, presenta memoria inmunológica, es autolimitada y especializada.

Se entiende por especificidad a la capacidad de producir efectores que reaccionan selectivamente contra una sustancia determinada, tanto reconocida como ajena, no reaccionando con otras sustancias de estructura diferente. De esta propiedad se deriva la heterogeneidad de la respuesta o la propiedad de poder responder específicamente frente a un elevado número de elementos diferentes.

Decimos que presenta memoria por la capacidad de producir incrementos posteriores en la rapidez e intensidad de la respuesta específica, cada vez que se produzcan nuevos contactos con una misma sustancia, ya sea reconocida como ajena por un organismo en una primera exposición.

La respuesta inmune es autolimitada en condiciones fisiológicas, tanto en cuanto a localización como al tipo, características e intensidad de los efectores, minimizando así el riesgo de autoagresión.

El sistema inmune se caracteriza, además, por su especialización, se compone de dos vertientes interrelacionadas: la inmunidad humoral, mediada por los anticuerpos que son producidos por las células plasmáticas derivadas de los linfocitos B, y la inmunidad celular por linfocitos T activados.

### **Clasificación de la inmunidad según la forma de adquirirla**

La inmunidad puede ser activa, pasiva o adoptiva. Activa es la que se adquiere frente a un agente extraño, después de haber tenido contacto directo con el mismo, ya sea por una exposición natural o artificial. Esta inmunidad es de larga duración, a veces de por vida. Pasiva es la que adquiere un individuo al recibir, de forma natural o artificial, los efectores producidos por un sujeto donante y que son capaces de reaccionar específicamente con una sustancia o agente ya sea reconocido como extraño por dicho donante. Este tipo de inmunidad es de corta duración. Adoptiva, la inmunidad que se adquiere al recibir de un donante las células capaces de reconocer y de responder específicamente a un agente extraño.

### **Órganos linfoides centrales, primarios o generadores. Células del sistema inmune**

Se denominan órganos linfoides centrales, aquellos donde los linfocitos alcanzan la madurez fenotípica y funcional.

La médula ósea de los huesos planos provee a los órganos centrales con células madres pluripotenciales (“stem cells”) de las que se derivarán la estirpe eritroide, megacariocítica, granulocítica, monocítica y linfocítica.

Estas células migran hacia el timo, órgano central para la inmunidad mediada por células, donde se desarrollarán los linfocitos T, y hacia la bursa de Fabricio en las aves, la médula ósea en el hombre, donde se desarrollarán los linfocitos B (de bursa), principales responsables de la inmunidad celular y humoral, respectivamente.

En estos órganos, mediante el reordenamiento de genes de los receptores de los linfocitos T y de los genes de las inmunoglobulinas en los linfocitos B, se producen los diferentes clones, cada uno procedente de un precursor y capaz de reconocer y responder frente a un antígeno definido, según la Teoría de la Selección Clonal.

Además adquieren otras moléculas de superficie que le dan su identidad. Las moléculas CD4 y CD8 (CD por “clusters” o grupos de diferenciación) permiten dividir las células T en cooperadoras (Th de “helper”) o citotóxicas (Tc). A su vez la población de células T cooperadoras puede subdividirse en Th1 y Th2. La subpoblación Th1 sintetiza y secreta interleukina 2 (IL-2) e interferón gamma (IFN $\gamma$ ) y participa activamente en la activación de la fagocitosis, así como la inducción de anticuerpos opsonizantes y fijadores del complemento. La Th2, sintetiza y secreta IL-4 e IL-5, e induce, mediante mecanismos de cooperación celular, la síntesis de otras inmunoglobulinas, como la IgE, importante en los fenómenos de hipersensibilidad inmediata.

A diferencia de los linfocitos descritos anteriormente, se encuentran otros de mayor tamaño denominados citocidas naturales (NK de “natural killer”), o células nulas, al no poseer receptores ni del tipo de las células T ni inmunoglobulinas sobre su superficie como las células B. Estas células se derivan de la médula ósea y no maduran en el timo; participan activamente en la defensa inespecífica y destruyen células tumorales o afectadas por virus sin necesidad de sensibilización previa, reconociendo la ausencia de péptidos propios, así como mediante la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, ya que poseen receptores para el fragmento Fc de la IgG; secretan además IFN $\gamma$ , lo que favorece la diferenciación de las células T.

Aunque los linfocitos T y B son las células que reconocen y responden a los antígenos, en las fases de reconocimiento y activación de la respuesta inmune se hace necesaria la participación de otras células no linfoides, llamadas células presentadoras de antígeno (CPA), que son imprescindibles para una adecuada activación celular. En este proceso participan decisivamente las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH).

Estas moléculas son proteínas de membrana codificadas por genes muy polimórficos, se dividen en clase I y II; son vitales para el reconocimiento del antígeno y se comportan como verdaderas huellas dactilares de la célula que nos dan la individualidad.

**Células del sistema inmune.**

<b>Clase</b>	<b>Funciones</b>	<b>Receptor para el antígeno</b>	<b>Marcadores fenotípicos</b>
Linfocito B	Anticuerpos	Inmunoglobulinas	Receptor Fc, CMH II, CD19+, CD21+
Linfocito Th	Crecimiento y diferenciación de células B. Activación de macrófagos.	Complejo receptor de células T	CD3+, CD4+, CD8-
Linfocito Tc	Lisis de células infectadas o tumorales. Rechazo de injertos. Activación de macrófagos.	Complejo receptor de células T	CD3+, CD4-, CD8+
Citocidas naturales (NK)	Lisis de células infectadas o tumorales. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.	Miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas	Receptor Fc de IgG (CD16+)
Células dendríticas	Principales células presentadoras de antígeno.		CMH II, CD4+, CD80+, CD86+

La función fisiológica fundamental de las moléculas de histocompatibilidad de la superficie celular consiste en captar fragmentos de péptidos de proteínas extrañas para presentarlos a las células T específicas, luego de su procesamiento por las células accesorias. Las de clase I se encuentran sobre todas las células nucleadas y las de clase II fundamentalmente sobre células que participan en la presentación antigénica. Las moléculas del CMH clase I presentan péptidos a células Tc CD8+ mientras que las de clase II a Th CD4+. Las moléculas de clase I unen péptidos derivados de proteínas sintetizadas de forma endógena (ejemplo, proteínas virales en células infectadas por virus) y ensambladas en el retículo endoplásmico. Las de clase II se asocian a péptidos derivados de proteínas exógenas, procesadas en las vesículas endosómicas / lisosómicas.

Las CPA poseen además una serie de moléculas coestimuladoras que participan en la activación linfocitaria. Entre estas células se destacan las dendríticas interdigitantes ubicadas en el intersticio de los órganos, denominadas de Langerhans en la piel, importantes en la estimulación de los linfocitos Th inmaduros, y las células dendríticas foliculares en los centros germinales de los folículos linfoides, así como los propios linfocitos B.

Los fagocitos mononucleares, monocitos y macrófagos, además del importante papel en los mecanismos inespecíficos de defensa, son células que pueden participar también en la cooperación celular, y son efectoras de la inmunidad, tanto celular en los fenómenos de hipersensibilidad retardada, como humoral mediante el mecanismo de la opsonofagocitosis. Las células endoteliales pueden intervenir en determinadas condiciones como CPA.

### **Órganos linfoides periféricos o secundarios**

Una vez que han madurado los linfocitos, migran hacia los órganos periféricos, que son los sitios anatómicos donde se inician y se desarrollan las respuestas frente a los agentes extraños.

Los órganos linfoides secundarios constitutivos son los ganglios linfáticos y el bazo, sitios anatómicos donde se originan las respuestas inmunitarias ante una primera exposición al inmunógeno.

En ellos se encuentran áreas pobladas por linfocitos que maduraron en el timo (T) y áreas pobladas por linfocitos B.

### **Órganos linfoides periféricos o secundarios constitutivos.**

<b>Órgano</b>	<b>Zona linfocitos T (principalmente CD4+)</b>	<b>Zona linfocitos B</b>
Ganglio linfático	Corteza parafolicular	Folículos linfoides primarios y secundarios
Bazo	Vaina linfoide periarteriolar	Folículos y centros germinales

En estos órganos se encuentran, además, un gran número de CPA, como las células dendríticas --ya descritas.

La diferencia fisiológica fundamental entre estos órganos linfoides está dada en que el bazo es el lugar principal de la respuesta contra los elementos extraños procedentes de la sangre y los ganglios linfáticos de la linfa.

Otros tejidos linfoides periféricos como el sistema inmunitario de mucosas (placas de Peyer, anillo de Waldeyer) y el cutáneo (dermis y epidermis), son importantes en la generación de la respuesta secundaria cuando nos ponemos nuevamente en contacto con una sustancia previamente reconocida como ajena. Las respuestas efectoras y de memoria son sistémicas y ocurren en tejidos periféricos.

### **Fases de la respuesta inmune**

La vía aferente incluye la fase de reconocimiento del elemento extraño, seguida de la fase de activación de las células del sistema inmune. En la vía eferente se localiza la fase efectora de la respuesta inmune.

Para la activación de las células del sistema inmune se requieren dos señales: la primera dada por el reconocimiento de la sustancia extraña, mediado por la presentación antigénica y la segunda por la interacción con moléculas coestimuladoras presentes en las CPA.

La cooperación celular permite integrar los distintos eventos relacionados con la respuesta inmune, y se hace evidente por el hecho de que los linfocitos T específicos para un antígeno, no lo reconocen en su forma libre ni soluble, sino como péptidos unidos de forma no covalente a productos génicos del CMH, luego del procesamiento por las CPA. Los péptidos asociados a las moléculas del CMH II son presentados a los linfocitos Th que los reconocen mediante el complejo receptor de células T, compuesto por un heterodímero alfa/beta ( $\alpha/\beta$ ) o gamma/delta ( $\gamma/\delta$ ) con funciones de reconocimiento, así como moléculas CD3 gamma ( $\gamma$ ), epsilon ( $\epsilon$ ) y moléculas zeta ( $\zeta$ ) y eta ( $\eta$ ), que son importantes en la transducción de señales. Interactúan, además, los linfocitos T y las CPA mediante una serie de moléculas con función de adhesión o transducción. Tenemos entre las más importantes las CD4 y CD8 que se adhieren a las moléculas de los CMH II o I, respectivamente, por fuera del sitio de reconocimiento del antígeno y CD28 a B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86), importantes en la transducción de señales.

Estas interacciones celulares activan los linfocitos T, que en el caso de los cooperadores para la inmunidad humoral, requiere una nueva cooperación entre el linfocito B y el T activado. En este caso, además de los procesos descritos, se añade la interacción entre el CD40 del linfocito B y su ligando sobre las células Th que lleva a la completa diferenciación de las células B y su transformación en células plasmáticas productoras de anticuerpos. Para el linfocito B, las inmunoglobulinas de superficie constituyen el receptor del antígeno.

### **Mecanismos mediados por anticuerpos en la fase efectora de la respuesta inmune**

Las inmunoglobulinas son moléculas producidas por las células plasmáticas. Desde el punto de vista molecular son glicoproteínas situadas en la fracción

Dr. Rolando Ochoa Azze

gamma del suero. Están estructuradas a partir de una unidad básica formada por dos cadenas pesadas y dos ligeras, unidas entre sí por enlaces disulfuro. Tienen una región variable y una región constante, esta dualidad estructural le confiere el carácter bifuncional que las caracteriza. Por la región variable, responsable de su especificidad, se combinan con el antígeno. La constante, especialmente la denominada Fc, es la responsable de sus funciones biológicas, tales como unir componentes del sistema del complemento o facilitar la fagocitosis a través de la unión con receptores sobre este tipo de células.

Existen 5 clases o isotipos de cadenas pesadas:  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , las que determinan las clases correspondientes de inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. La IgG e IgA se dividen a su vez en diferentes subclases.

IgG es la más abundante en el suero, es capaz de activar el sistema del complemento --que describiremos más adelante--, participa activamente en el mecanismo de la opsonización y es capaz de atravesar la placenta. Es la inmunoglobulina característica de la respuesta secundaria.

IgM presenta la mayor capacidad para fijar y activar el sistema del complemento. Es característica de la respuesta primaria.

La IgA es la principal clase de inmunoglobulina en las secreciones seromucosas y participa activamente en los mecanismos defensivos de superficie.

La IgE se encuentra en muy pequeñas cantidades, su función biológica está relacionada con la inmunidad activa contra parásitos pluricelulares, pero se asocia con mayor frecuencia a enfermedades alérgicas mediadas por la degranulación de mastocitos y basófilos.

#### ✓ Neutralización de microorganismos y sus productos

Los anticuerpos son capaces de neutralizar toxinas bacterianas bloqueando su unión a los receptores de membrana de su célula diana. El bloqueo de los receptores de superficie puede disminuir la velocidad de proliferación bacteriana y retrasar la penetración celular. Los anticuerpos evitan además la adsorción celular y por ende la penetración de virus, y pueden interferir con los eventos intracelulares subsiguientes. Este mecanismo es muy importante en la inhibición directa de la infectividad viral, constituyendo un mecanismo crítico en la defensa del hospedero. La IgA es muy importante en la inhibición de la adherencia de diferentes agentes biológicos, previniendo de esta forma su colonización.

✓ Activación del sistema del complemento

El sistema del complemento es un conjunto de unas 30 proteínas. Su activación amplifica extraordinariamente la respuesta inmune frente a microorganismos por medio de una cascada enzimática similar a la de la coagulación sanguínea. Incluye proteínas reguladoras solubles y de membrana.

Posee dos vías de activación: la clásica que se inicia por la unión del componente C1 a un complejo antígeno–anticuerpo, y la vía alternativa que participa como mecanismo inespecífico de defensa al activarse directamente por algunas estructuras químicas presentes en ciertos microorganismos. En ambos casos se produce una citotoxicidad directa a través de la formación del llamado complejo de ataque a la membrana (CAM).

Otros efectos biológicos dependen de productos derivados de la activación de este sistema, tales como la inducción de inflamación por las anafilotoxinas generadas (C3a, C4a, C5a), quimiotaxinas para neutrófilos (C5a), y generación de opsoninas (C3b, iC3b, C4b) que se unen a los receptores tipos 1, 3 y 4 sobre neutrófilos y macrófagos promoviendo la fagocitosis. Participan además en la eliminación de inmunocomplejos a través del sistema fagocítico mononuclear, así como en la activación de células B.

✓ Oponización y fagocitosis

Las células fagocíticas pueden reconocer directamente a las bacterias, sin embargo para que la fagocitosis sea altamente efectiva, se requiere de la participación de factores llamados opsoninas que facilitan el reconocimiento a través de receptores de membrana específicos para ellas.

Entre las opsoninas, las más importantes son algunos componentes derivados de la activación del complemento --ya descritos--, y los anticuerpos, sobre todo los de la clase IgG, mediante su unión a los receptores Fc- $\gamma$  de los monocitos, macrófagos y neutrófilos.

✓ Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Las células NK son las principales mediadoras de este tipo de citotoxicidad. Los receptores Fc- $\gamma$  de estas células se unen a la IgG que recubre la célula diana. La ocupación de estos receptores estimula a su vez la síntesis y secreción de citocinas que median los procesos inflamatorios, así como provocan su degranulación y la consiguiente lisis celular.

Dr. Rolando Ochoa Azze

Los eosinófilos participan en este tipo de citotoxicidad contra parásitos tales como helmintos. En este caso en lugar de la IgG es la IgE la que proporciona el reconocimiento y la activación de las células efectoras, que poseen receptores de alta afinidad Fc-ε. Los eosinófilos también pueden utilizar la IgA a través de los receptores Fc-α.

### **Mecanismos efectores de las reacciones inmunitarias mediadas por las células T**

En la inmunidad mediada por células, la fase efectora se inicia a través del reconocimiento específico del antígeno por células T de memoria. Este patrón inmunitario está determinado en gran medida por las infecciones intracelulares que inducen a los macrófagos a sintetizar IL-12, favoreciendo la diferenciación de las células T CD4<sup>+</sup> hacia la subpoblación Th1, así como la activación de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> citolíticos.

#### ✓ Reacciones mediadas por linfocitos T CD4<sup>+</sup> Th1

Estas reacciones se basan en la activación de células efectoras inespecíficas, la que es inducida por la secreción de diferentes citocinas producidas por los linfocitos T. En las reacciones celulares mediadas por linfocitos Th1, conocidas por muchos autores como de hipersensibilidad retardada, la célula efectora final más importante es el macrófago activado.

Los linfocitos Th1 secretan factor de necrosis tumoral (FNT) y otras citocinas que estimulan el proceso inflamatorio, favoreciendo el aumento del flujo sanguíneo local y el transporte de leucocitos hasta la lesión mediante la generación de quimioquinas y otras proteínas quimiotácticas por las células del endotelio microvascular, así como por la expresión o el aumento de proteínas de superficie que favorecen los fenómenos de adhesión y diapédesis.

Los macrófagos activados por el IFN $\gamma$ , secretados por las células T y NK, son capaces de destruir de una manera más eficaz a los microorganismos. Refuerzan el cuadro de inflamación aguda a través de citocinas y otros mediadores inflamatorios y se convierten en CPA más eficaces. Si el microorganismo no es erradicado, sus productos pueden provocar la destrucción celular y la ulterior sustitución por tejido conectivo.

#### ✓ Reacciones mediadas por linfocitos Tc

Se observa en las infecciones intracelulares de células no fagocíticas, o aquellas que no son contenidas del todo por los fagocitos, así como en las

infecciones virales a sus células diana. La mayor parte de las células Tc son del fenotipo T CD8+.

Los linfocitos Tc reconocen el antígeno expresado en las moléculas del CMH I. Luego de la activación de estas células, en las cuales el IFN $\gamma$  y la IL-12 desempeñan un importante papel, se produce la exocitosis de los gránulos que contienen perforinas y granzimas, que producen respectivamente la lisis osmótica y muerte apoptótica de las células infectadas.

### **Citocinas**

Las citocinas son un grupo diverso de polipéptidos y glicoproteínas producidas en las fases de activación y efectora de la respuesta inmune que comparten una serie de propiedades:

- Son producidas por varios tipos celulares.
- Actúan sobre diferentes tipos celulares (pleiotropismo).
- Ejercen sus efectos uniéndose a receptores específicos sobre las células diana, a través de las vías autocrina, paracrina y endocrina.
- Sus acciones son con frecuencia redundantes.
- Influyen en la acción de otras citocinas (sinergia o antagonismo).

### **Clasificación**

- Citocinas que median y regulan los mecanismos inespecíficos de defensa: IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, quimioquinas, FNT, IFN I.
- Citocinas que participan en el crecimiento, activación y diferenciación linfocitaria: IL-2, IL-4, IL-5, IL-12, IL-13, factor transformador de crecimiento  $\beta$ , IFN $\gamma$ .
- Citocinas que estimulan la hematopoyesis: IL-3, IL-7, IL-9, IL-11, factores estimulantes de colonias, ligando c-kit.

Entre ellas destacamos la IL-2, principal factor de crecimiento para los linfocitos T, el IFN $\gamma$  en la activación de fagocitos y la diferenciación linfocitaria hacia la subpoblación Th1, la IL-4 como factor de crecimiento y diferenciación de la subpoblación Th2, la IL-12 que proporciona una importante conexión entre los mecanismos inespecíficos y específicos de defensa, y el FNT principal mediador de la respuesta inflamatoria.

### **Respuesta inmune primaria y secundaria. Definición. Categorías**

Respuesta primaria son los eventos que suceden cuando una sustancia se pone en contacto por primera vez con el sistema inmune de un individuo.

Respuesta secundaria es la que se produce cuando el sistema inmune del individuo se pone nuevamente en contacto con la sustancia que previamente había inducido una respuesta inmune.

### **Diferencias entre respuesta inmune primaria y secundaria.**

<b>Categorías</b>	<b>Respuesta primaria</b>	<b>Respuesta secundaria</b>
Latencia	Mayor	Menor
Intensidad	Menor	Mayor
Duración	Menor	Mayor
Isotipo de anticuerpos	IgM > IgG	IgG
Afinidad	Menor	Mayor
Inducida por	Inmunógenos	Antígenos proteicos
Memoria	Se evidencia en la respuesta secundaria	

**Latencia:** Es el intervalo que media desde la penetración del agente extraño hasta la detección de anticuerpos o linfocitos T activados.

**Intensidad:** Es el máximo de la respuesta inducida.

**Duración:** Es el período desde la aparición de los efectores de la respuesta inmune, como lo son, por ejemplo, los anticuerpos, hasta que no sean detectables.

**Memoria:** Se evidencia por la respuesta modificada cualitativamente ante una posterior puesta en contacto con el mismo elemento extraño.

Los antígenos que inducen una respuesta secundaria se conocen como timodependientes al requerir de la cooperación de los linfocitos T, como sucede con las proteínas, en oposición a los timoindependientes, como los lipopolisacáridos (LPS) que no son capaces de alcanzar una apropiada respuesta secundaria.

Al analizar integralmente los mecanismos inespecíficos y específicos de defensa, observamos que no pueden separarse radicalmente. Existe una estrecha interrelación entre ambos, tanto en la vía aferente, entre los que se destacan fundamentalmente las CPA, como en la eferente. Recordemos que se necesita de las CPA para activar las células T, que se requieren a su vez para

estimular la producción de anticuerpos contra antígenos timodependientes. Las células NK mediante la producción de IFN $\gamma$  participan en la diferenciación de los linfocitos T hacia las subpoblaciones Th1. A su vez, los macrófagos, granulocitos y células NK son importantes en la fase efectora de la respuesta inmune. Esto reafirma el concepto de sistema integrado de defensa en lugar de líneas defensivas aisladas y sin conexión.

### **Mecanismos de defensa frente a microorganismos**

No todos los microorganismos son iguales, difieren entre otros aspectos en su estructura, en la forma y lugar de replicación, así como en la resistencia contra los mecanismos inespecíficos de defensa.

Con frecuencia los microorganismos son capaces de sobrevivir a dichos mecanismos, por lo que el sistema inmune durante su desarrollo filogenético, adquirió la capacidad de responder contra estos agentes de diferentes formas especializadas, con el objetivo de combatirlos más eficazmente, tal y como describiremos a continuación.

#### **Bacterias extracelulares**

Las bacterias extracelulares son aquellas capaces de dividirse fuera de las células del hospedero, por ejemplo, en la circulación, tejidos conectivos y en diferentes espacios extracelulares. Entre estas bacterias tenemos cocos grampositivos (estafilococos, estreptococos), gramnegativos (meningococos, gonococos), bacilos gramnegativos entéricos (*Escherichia coli*) y bacilos grampositivos (*Clostridium*).

Las bacterias extracelulares producen enfermedad a través de dos mecanismos principales:

- Mediante la inducción de inflamación que destruye el tejido en el foco infeccioso.
- Mediante la producción de toxinas: endotoxinas (LPS) y exotoxinas como la tetánica.

#### ✓ Mecanismos inespecíficos de defensa contra bacterias extracelulares

Frente a estas bacterias, además de la barrera de piel y mucosas, son muy importantes otros mecanismos, como la fagocitosis por los neutrófilos, monocitos y macrófagos. La resistencia de las bacterias a la fagocitosis es un determinante de la virulencia.

También la activación del complemento por la vía alternativa (que genera bacteriolisis por el CAM, anafilotoxinas y generación de opsoninas), así como la inflamación local inducida no sólo por las anafilotoxinas, sino por las citocinas producidas por macrófagos y otras células estimuladas por endotoxinas, entre las que se destacan el FNT, IL-1 e IL-6.

✓ Respuestas inmunitarias frente a bacterias extracelulares

La inmunidad humoral es la principal respuesta protectora contra bacterias extracelulares. La exposición al agente infeccioso da por resultado la producción de anticuerpos dirigidos contra sus componentes estructurales o sus productos tóxicos, también puede iniciar las respuestas celulares mediadas por linfocitos y macrófagos.

Los anticuerpos protectores incluyen los que inactivan los productos tóxicos solubles, facilitan la fagocitosis y la digestión intracelular de los microorganismos (opsoninas), fijan el complemento sérico para dañar cápsulas y membranas (lisinas), previenen la adhesión a las superficies mucosas (antiadhesinas) y la proliferación de los gérmenes infectantes (anticuerpos neutralizantes).

Los polisacáridos capsulares y de las paredes celulares de las bacterias son prototipos de inmunógenos timoindpendientes. Estos estimulan directamente las células B y dan lugar a una respuesta preferentemente de la clase IgM; se producen, además, otros isotipos de inmunoglobulinas, probablemente como resultado de la liberación de citocinas que promueven el cambio entre isotipos de cadenas pesadas. Un ejemplo de esto es la respuesta contra los polisacáridos capsulares de neumococo y meningococo, que está predominantemente caracterizada por la producción de anticuerpos IgG de la subclase IgG<sub>2</sub>.

Para los componentes timodependientes, es característica la respuesta de células Th, estimuladas por antígenos peptídicos en asociación con moléculas del CMH clase II, previa fagocitosis de la bacteria y su procesamiento por las CPA.

La presentación antigénica de las células B a las células Th y la liberación de citocinas, estimula varios mecanismos efectores:

1. Producción de anticuerpos de clase IgG, isotipo característico de la respuesta secundaria, que opsonizan las bacterias y favorecen la fagocitosis.

2. Anticuerpos IgM, en la respuesta primaria, e IgG que neutralizan las toxinas bacterianas y evitan su unión a las células diana o blanco.
3. Los anticuerpos IgA, presentes en varias secreciones (tractos gastrointestinal y respiratorio) son muy importantes para neutralizar las toxinas bacterianas y prevenir la colonización en órganos extraluminales. La IgA tiene poca importancia en la inmunidad humoral sistémica, pero desempeña un papel clave en la inmunidad de mucosa, debido a que puede ser selectivamente transportada a través de las mucosas, donde es capaz de neutralizar diferentes gérmenes y toxinas e inhibir la adhesión, como puede ocurrir con las infecciones por *Vibrio cholerae* y *Salmonellas*.
4. Anticuerpos IgM e IgG, que activan el complemento y llevan a la producción del CAM, de acción microbicida y a la liberación de productos que son mediadores en la inflamación aguda y de opsoninas que promueven la fagocitosis. La función lítica del CAM es más importante en algunas bacterias. Por ejemplo, las deficiencias en los últimos componentes del complemento, C5 al C8, están asociadas con una alta susceptibilidad a las infecciones por *Neisseria*, pero no a otras infecciones bacterianas.

La función efectora de los linfocitos Th está mediada por citocinas que estimulan la secreción de anticuerpos, inducen inflamación local e incrementan la actividad fagocítica y microbicida de los macrófagos. El IFN $\gamma$  y el FNT son las principales citocinas responsables de la activación de los macrófagos y el proceso inflamatorio. Otras citocinas son importantes para la secreción y el cambio de clase de anticuerpos.

✓ Evasión de las bacterias extracelulares a los mecanismos de defensa del hospedero

Se ha relacionado la virulencia de las bacterias extracelulares con diversos mecanismos de evasión que favorecen la invasión y colonización de los tejidos:

1. Resistencia a los mecanismos de defensa inespecíficos.
  - Inhibición de la activación de la vía alternativa del complemento.
  - Resistencia a la fagocitosis.
2. Resistencia a los mecanismos específicos de defensa.
  - Variación genética de antígenos de superficie.

### **Bacterias intracelulares**

Son las que sobreviven y se replican dentro de las células del hospedero. Teniendo en cuenta que estos microorganismos han sido capaces de encontrar un nicho donde se hacen inaccesibles a los anticuerpos circulantes, su eliminación requiere de mecanismos inmunes bien diferentes a los utilizados contra bacterias extracelulares. Se caracterizan por infectar a personas inmunodeprimidas. Entre estas bacterias tenemos *Mycobacterium tuberculosis* y *Lysteria monocytogenes*, que infectan de forma oportunista a pacientes con SIDA.

#### ✓ Mecanismos inespecíficos de defensa contra bacterias intracelulares

En sentido general las bacterias intracelulares resisten la degradación dentro de los macrófagos y son inaccesibles por supuesto a la acción del complemento, y aunque las células NK son capaces de activar los macrófagos a través de la producción de  $IFN\gamma$ , los mecanismos inespecíficos de defensa son poco eficaces para controlar la colonización y diseminación de estos microorganismos, que tienden a producir infecciones crónicas.

#### ✓ Respuestas inmunitarias frente a bacterias intracelulares

La principal respuesta inmune protectora contra bacterias intracelulares es la inmunidad mediada por células que consiste en dos tipos de reacciones:

1. Activación de los macrófagos por las citocinas producidas por las células T, sobre todo  $IFN\gamma$ , con la consiguiente muerte de los microorganismos fagocitados.
2. Lisis de las células infectadas por los linfocitos Tc CD8+.

Los linfocitos T CD4+ responden a los antígenos peptídicos presentados por las células presentadoras en el contexto de las moléculas del CMH clase II y se diferencian en el fenotipo Th1, inducidos por la producción de  $IFN\gamma$  por las células asesinas naturales (NK) y linfocitos T activados, así como por la producción de IL-12 por los macrófagos. Las células Th1 secretan a su vez  $IFN\gamma$ , el cual activa a los macrófagos para que produzcan derivados reactivos de oxígeno y enzimas que maten a las bacterias fagocitadas. El  $IFN\gamma$  estimula también el cambio de isotipo de anticuerpos que activan el complemento y opsonizan las bacterias para la fagocitosis, de modo que ayuda a las funciones efectoras de los macrófagos. Los linfocitos Th1 también producen FNT, que induce inflamación local.

Las poblaciones linfocitarias Tc reconocen los antígenos procesados en el citoplasma y presentados en asociación con las moléculas clase I del CMH. Estos linfocitos se activan, lisan las células infectadas y producen IFN $\gamma$ .

Estos dos mecanismos efectores, activación macrofágica y citotoxicidad linfocitaria, se complementan entre sí y actúan juntos. Se ha demostrado que se requiere de los linfocitos T CD4+ fenotipo Th1 y Tc CD8+ para eliminar la infección.

✓ Evasión de las bacterias intracelulares a los mecanismos de defensa del hospedero

Las bacterias intracelulares se caracterizan por el desarrollo de diferentes y eficaces mecanismos para evadir la acción defensiva del hospedero. Son capaces de presentar variación genética, pero probablemente el más importante mecanismo de supervivencia es su capacidad para resistir a su eliminación por los fagocitos.

Aunque hemos descrito los mecanismos de defensa contra bacterias extracelulares e intracelulares, esta separación no es esquemática, existiendo además otros microorganismos en los que ambas vertientes del sistema inmune participan activamente, como sucede con *Treponema pallidum* agente de la sífilis.

### **Mecanismos de defensa frente a los virus**

Los mecanismos inespecíficos de defensa son en general poco eficaces, aunque debe destacarse la actividad antiviral inducida por el IFN tipo I y el papel de las células NK.

La inmunidad contra las infecciones virales es mediada por una combinación de mecanismos inmunes humorales y celulares. La vacunación profiláctica es efectiva ya que se estimulan anticuerpos específicos, efectivos en estadios extracelulares. Los anticuerpos antivirales neutralizantes se unen a la envoltura o cápside viral y previenen la unión y entrada a las células del hospedero. La IgA secretoria bloquea las vías de entrada respiratoria e intestinal y los anticuerpos opsonizantes incrementan la fagocitosis. La activación del complemento puede también participar, o por lisis directa o promoviendo la fagocitosis. Sin embargo, una vez que logran penetrar a sus células diana, se hacen inaccesibles a los anticuerpos. El principal mecanismo de la inmunidad contra las infecciones virales establecidas es la lisis celular por los linfocitos Tc.

### **Mecanismos de defensa frente a hongos**

Los hongos son usualmente resistentes a los mecanismos de defensa del hospedero. Los neutrófilos son el principal mediador inespecífico. La inmunidad mediada por la respuesta inflamatoria inducida por linfocitos Th y macrófagos constituye el principal mecanismo que controla la diseminación de una micosis.

### **Mecanismos de defensa contra infecciones parasitarias**

Los parásitos poseen ciclos de vida muy complejos, un gran mosaico antigénico que varía en diferentes estadios y son resistentes a los mecanismos de defensa.

La inmunidad antiparasitaria se caracteriza porque las respuestas inflamatorias y citotóxicas mediadas por células T son más eficientes contra parásitos intracelulares. Las mediadas por anticuerpos son más activas contra los parásitos extracelulares.

El patrón Th1 se observa en infecciones por esquistosomas y Leishmanias. El Th2 con producción de IgE y la consiguiente degranulación de mastocitos, respuesta inflamatoria, eosinofilia y citotoxicidad dependiente de anticuerpos es característica de las infecciones por helmintos.

### **Papel de las diferentes respuestas inmunitarias en caso de exposición al agente infeccioso**

Para evaluar objetivamente el diagnóstico clínico y de laboratorio se requiere conocer el papel de los distintos efectores inmunitarios, así como los mecanismos de supervivencia y patogenicidad de los microorganismos.

#### **Papel de las diferentes respuestas inmunitarias frente a la infección.**

<b>Respuesta</b>	<b>Previene la infección</b>	<b>Limita la difusión</b>	<b>Control / eliminación</b>
Anticuerpos	+++	+++	+
Linfocitos T CD4+ Th1	-	++	++
Linfocitos T CD8+ Tc	-	+	+++

También son necesarios para el diseño de procedimientos terapéuticos e inmunoprolifáticos, en primer lugar, la inmunización activa. La respuesta

inmune se basa en los mismos principios cuando el estímulo proviene de microorganismos vivos atenuados, inactivados, o sus fracciones, procesados para ser empleados como vacunas.

El propósito de la vacunación es inducir inmunidad que prevenga la invasión por microorganismos, los elimine si logran entrar al hospedero y neutralice sus toxinas, pero esto será tema del capítulo siguiente.

## Capítulo 3

### Vacunas. Desarrollo actual y tendencias

Vacuna es el preparado biológico que se inyecta en un organismo con el fin de lograr un estado de inmunidad contra un determinado agente infeccioso o una enfermedad dada. Esta definición engloba tanto las vacunas preventivas actuales, como las terapéuticas que se desarrollan contra enfermedades auto-inmunes, neoplasias y alergias entre otras entidades crónicas. Sin embargo, las diseñadas para prevenir las enfermedades infecciosas siguen siendo de gran interés, teniendo en cuenta la disminución de la morbilidad y de la mortalidad que se previenen con su empleo.

La vacunación constituye uno de los mayores logros alcanzados por la salud pública a escala mundial. Con la excepción del suministro estable de agua potable, ninguna otra intervención de salud ha tenido el impacto de la vacunación para reducir la prevalencia de las enfermedades infecciosas. Cada año las vacunas previenen alrededor de 3 millones de muertes y se evitan incapacidades en cerca de 1 millón de niños. Tiene un impacto directo sobre la economía, es la acción de salud con un mejor balance costo-beneficio al disminuir los costos en tratamientos y hospitalizaciones, reducir las incapacidades y por supuesto la improductividad. Los beneficios que se obtienen son a largo plazo y contribuyen activamente no sólo con el desarrollo económico, sino el social. De este procedimiento se obtiene un resultado colectivo, la inmunidad poblacional, antes llamada de “rebaño”, es esencial en la profilaxis de las enfermedades transmisibles, incluso en aquellos individuos que hayan quedado sin proteger; por no haber sido inmunizados o por ser no-respondedores o hiporrespondedores ante el estímulo inmunogénico, en ellos la prevención se alcanza al interrumpir la cadena de transmisión.

La inmunoepidemiología está, por tanto, estrechamente ligada con la vacunación. Se hace necesario conocer los aspectos más relevantes relacionados con las vacunas para poder comprender todas las potencialidades de esta disciplina en este campo.

#### **Criterios de clasificación de las vacunas**

- Según su composición.
- Según el tipo de respuesta inmune inducida.
- Según sus objetivos.

- Según la tecnología de producción empleada.
- Según la capacidad de autorreplicarse.

Según su composición las vacunas pueden ser de microorganismos enteros o de sus fracciones, independientemente de la tecnología de producción empleada.

Las vacunas pueden inducir preferentemente una respuesta inmune a predominio de la vertiente humoral o celular, o con participación de ambos componentes, lo que está íntimamente relacionado con las características del inmunógeno vacunal; aquellos de gérmenes vivos, inducen una adecuada inmunidad celular, los compuestos por microorganismos inactivados o sus fracciones, preferentemente la vertiente humoral, aunque deben distinguirse aquellos que requieren de la participación de linfocitos Th para la producción apropiada de anticuerpos.

Según sus objetivos, las vacunas pueden ser terapéuticas o preventivas, tal y como describimos al inicio del capítulo.

La tecnología de producción permite dividir las vacunas en clásicas o modernas, entre las primeras incluimos bacterias o virus vivos atenuados, o inactivados, así como sus fracciones naturales. Las tecnologías modernas abarcan la conjugación de polisacáridos bacterianos con proteínas portadoras para una respuesta timodependiente, así como la obtención de inmunógenos por recombinación genética y síntesis química, entre otros.

Las vacunas según su capacidad de autorreplicarse pueden dividirse en replicativas o no, este es a nuestro juicio el criterio de clasificación más integral, ya que incluye los anteriores y es además muy útil para evaluar el tipo de respuesta inmune estimulada, teniendo en cuenta que los inmunógenos replicativos se caracterizan por respuestas mediadas por linfocitos Tc, Th y anticuerpos.

Los microorganismos vivos atenuados son ejemplos clásicos de vacunas replicativas. Entre las no replicativas tenemos las vacunas compuestas de microorganismos enteros inactivados y las vacunas de subunidades. Estas últimas pueden ser obtenidas de exotoxinas (toxoides), proteínas, péptidos, glicoproteínas de superficie, polisacáridos capsulares o somáticos externos, vesículas completas de membrana externa, así como otras fracciones. Pueden también ser producidas mediante tecnologías modernas de producción.

Las vacunas génicas pueden a su vez clasificarse como replicativas, como sucede con los microorganismos mutados avirulentos, o no replicativas cuando

Dr. Rolando Ochoa Azze

se utilizan vacunas de ADN “desnudo” o con el empleo de vectores, aunque algunos autores consideran que estos últimos pueden ser considerados replicativos.

### **Vacunas comercializadas**

Para predecir el probable comportamiento de la inmunidad poblacional es necesario conocer las principales características de las vacunas que actualmente se emplean en los diferentes programas de vacunación.

#### **Características de las vacunas actualmente comercializadas.**

<b>Propiedades</b>	<b>Microorganismos vivos atenuados</b>	<b>Inactivados o sus fracciones naturales o recombinantes</b>
Necesidad de refuerzos	Generalmente es suficiente con una dosis	Generalmente se requieren dosis múltiples
Replicación en el hospedero	Si	No
Reversión	Posible	No
Estabilidad	Baja	Estabilidad mayor
Vía de administración	Pueden administrarse por la vía en que se adquiere la infección	Por lo general se administran por vía parenteral
Respuesta inmune	Humoral y celular	Humoral preferentemente
Requerimiento de adyuvantes	No	Los incluyen corrientemente

Un cabal conocimiento de estas vacunas nos permite dirigir los estudios hacia los efectores de la respuesta inmune involucrados, conocer la duración de la inmunidad y por tanto valorar o no la necesidad de refuerzos.

Debe prestarse una particular atención a la estabilidad del producto, para lo que deben seguirse las orientaciones del fabricante. La estabilidad varía según el inmunógeno vacunal; los agentes vivos son menos estables y muy dependientes de la temperatura y las condiciones generales de almacenamiento.

### Vacunas en fase de investigación

En los últimos años se han desarrollado nuevas vacunas, aunque desgraciadamente son todavía poco numerosas; están basadas en los novedosos principios de síntesis química y el empleo de vectores, en algunos de estos casos se han cumplido todos los requisitos regulatorios para su comercialización, en otros, como sucede con las vacunas de ADN en las cuales se aplica no el inmunógeno, sino el gen que lo codifica, existe el temor en cuanto a su seguridad, dado por el riesgo de que el ADN administrado se integre en el material cromosómico del hospedero y pueda causar mutaciones, así como la posibilidad de inducción de tolerancia, es decir ausencia de respuesta inmune adecuada ante un inmunógeno específico, o también la producción de reacciones autoinmunes, por lo que se debe probar exhaustivamente la seguridad de estas vacunas. A pesar de esto constituyen una alternativa muy prometedora. Se prevén además avances notables basados en el empleo de nuevos adyuvantes y métodos de distribución novedosos, tales como vacunas en plantas transgénicas, parches de piel transcutánea y vacunas nasales.

Un atractivo particular de estos nuevos candidatos vacunales lo constituye el estímulo tanto de la inmunidad humoral como la celular, con el objetivo de alcanzar una mejor protección, sobre todo contra agentes intracelulares en los que los mecanismos efectores mediados por linfocitos Th y Tc son necesarios para controlar la infección.

#### Características de las vacunas en fase de investigación.

Propiedades	Péptidos sintéticos	Vectores vivos	Vacunas de ADN
Necesidad de refuerzos	Si	Posiblemente	Posiblemente
Reversión	No	Posible	No
Estabilidad	Alta	Baja	Muy estable
Respuesta inmune	Humoral preferentemente	Humoral y celular	Humoral y celular
Requerimiento de adyuvantes	Si	No	No

## Vacunas en el siglo XXI

Las perspectivas de desarrollo en el campo de la vacunología son amplias, basadas en la introducción de las nuevas tecnologías.

Se augura un incremento notable del número de inmunógenos vacunales, nuevas estrategias de inmunización materna y del neonato, y aquellas dirigidas a prevenir enfermedades específicas en dependencia de la edad y el riesgo.

En el caso de los países subdesarrollados, y teniendo en cuenta su cobertura sanitaria, particularidades geográficas, así como el carácter endémico o epidémico de la enfermedad, deberán incluirse vacunas dirigidas contra *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Shigella*, contra la fiebre tifoidea, la malaria y el dengue, entre otras enfermedades. Probablemente deberán también mantener algunas estrategias particulares, como sería el caso de la vacuna oral de virus vivos atenuados contra la poliomielitis (OPV), o el enfoque de esquema combinado IPV + OPV que eliminaría la posibilidad de fallas de inmunidad y disminuiría el riesgo de poliomielitis paralítica asociada a la vacuna oral, que puede producirse al recuperar los virus su neurovirulencia.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado las vacunas según sus intereses y las potencialidades de empleo:

- Vacunas usadas con regularidad en el Programa Ampliado de Inmunización: Además de las seis vacunas básicas: contra la poliomielitis, tétanos, difteria, *pertussis*, sarampión y tuberculosis, se emplean frecuentemente vacunas para la prevención de la rubéola, parotiditis, hepatitis B y fiebre amarilla.
- Vacunas disponibles pero no ampliamente utilizadas en la mayor parte de los países subdesarrollados: Hib, varicela, encefalitis japonesa, hepatitis A, fiebre tifoidea, vacunas contra neumococos y meningococos.
- Vacunas claves para estos países y que se encuentran en desarrollo o perfeccionamiento: VSR, rotavirus, *Shigella*, *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Vibrio cholerae*, VIH/SIDA, malaria, esquistosomiasis y dengue.

**Vacunas probables que se aplicarán en este siglo.**

Immunización Materna	Difteria, tétanos y <i>pertussis</i> acelular formulación para adultos (dTPa), estreptococos del grupo $\beta$ , virus sincitial respiratorio (VSR), neumococos, gripe, parainfluenza.
Neonatal	Tuberculosis (TB), VSR/parainfluenza, hepatitis B.
Lactantes	Rotavirus y combinaciones pediátricas: DTPa / vacuna de polio inyectable (IPV) / hepatitis / <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b (Hib) / neumococos/meningococos, VSR/parainfluenza.
Niños de 1-2 años	Parotiditis, rubéola, sarampión, varicela (PRSV), gripe. Refuerzos pediátricos.
Niños de 4-6 años	Refuerzos pediátricos, PRSV, <i>Streptococcus mutans</i> , enfermedad de Lyme, TB.
Adolescentes	Hincapié en las enfermedades de transmisión sexual (ETS), tales como VIH, herpes virus 2, virus de Epstein Barr, citomegalovirus, papilomavirus, parvovirus. Refuerzos.
Adultos jóvenes	Refuerzos, dTPa, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>Chlamydia pneumoniae</i> , meningococos, vacunas del viajero según el área geográfica de destino.
Mayores de 55 años	Refuerzos, gripe, neumococos, herpes zóster, vacunas contra el cáncer.

En el desarrollo de nuevas vacunas debemos destacar la táctica orientada a la prevención de las enfermedades de transmisión sexual, basada en la inmunización tan pronto comienza la vida sexual activa, así como el desarrollo que deberán alcanzar las vacunas contra el cáncer, tanto profilácticas como terapéuticas, que aunque pueden comenzar a aplicarse en edades tempranas como sucede al inmunizar contra el virus de la hepatitis B o contra el papilomavirus, cobrará una importancia particular en los individuos mayores de 55 años.

El aumento del número de inmunógenos vacunales obligará a incrementar todavía más la valencia de las vacunas combinadas, por lo que deberá estudiarse detalladamente la posible competencia entre los diferentes inmunógenos, determinada de una u otra forma por la inmunodominancia de los distintos epítomos o determinantes antigénicos presentes. Impulsará también el uso de nuevas vías de aplicación, fundamentalmente la de mucosas, y probablemente el empleo de vectores o vacunas de ADN.

Dr. Rolando Ochoa Azze

En el desarrollo futuro de vacunas se trabaja intensamente en alcanzar una mayor estabilidad sin depender de la cadena de frío, lo que facilitaría la ejecución de programas de vacunación, sobre todo en los países con una economía menos favorecida.

El porvenir de la vacunación se vislumbra favorable, seremos testigos de una era de nuevas tecnologías y de vacunas novedosas que cambiarán el paradigma al que durante tantos años se ha limitado a las vacunas, que se diseñarán no sólo para la prevención de las enfermedades infecciosas o el tratamiento de las infecciones agudas, sino también en aquellos casos en que el agente ha establecido una infección crónica o latente. Entre los retos mediatos tenemos las vacunas preventivas frente al VIH, la malaria y la tuberculosis. Entre los candidatos para la vacunación terapéutica incluimos al VIH, el herpes simple y *Helicobacter pylori*. Veremos también un auge en el desarrollo de vacunas para la profilaxis y la terapéutica de un gran número de enfermedades no infecciosas.

## Capítulo 4

### **Papel del medio ambiente en la inmunoepidemiología**

La existencia de todos los organismos, incluyendo los seres humanos, depende de su estructura y fisiología y también de las condiciones ambientales en que viven, de manera que los factores físicos, biológicos y sociales influyen decisivamente en su desarrollo. La vida está estrechamente ligada no sólo a los elementos físicos del ambiente, sino a los bióticos, es decir, la existencia de sus semejantes y otras clases de organismos que integran la comunidad de la cual forma parte.

El concepto de medio ambiente ha evolucionado desde la más remota antigüedad, así Hipócrates (460-375 años antes de Cristo), en su obra “Aires, Aguas y Lugares”, resalta su importancia como causa de enfermedad. Thomas Sydenham (1624-1689) y Giovanni Maria Lancisi (1654-1720) formulan la teoría “miasmática”, en la que definen el “miasma” como el conjunto de emanaciones fétidas de suelos y aguas impuras que son causa de enfermedad. En el siglo XIX con William Farr que analiza la mortalidad de los mineros y John Snow que estudia el modo de transmisión del cólera, se consolida la importancia del medio ambiente en la epidemiología. La conferencia intergubernamental sobre la educación ambiental realizada en Tbilisi, Georgia, en 1977, auspiciada por la UNESCO y con la colaboración del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, actualizó la evolución lógica e histórica del concepto medio ambiente, al expresar en el informe final que “... se ha convenido ahora en que el concepto de medio ambiente debe abarcar el medio social y cultural, y no sólo el físico, por lo que los análisis que se efectúen deben tomar en consideración las interacciones entre el medio natural, sus componentes biológicos y sociales, y también los factores culturales ...”. Se puede inferir el aporte realizado, al reconocer la dimensión social y humana del medio ambiente.

Consideramos como una definición más objetiva de medio ambiente al sistema de elementos abióticos, bióticos y sociales con los que interactúa el hombre, a la vez que se adapta al mismo, lo transforma y lo utiliza para satisfacer sus necesidades. Debe concebirse en su totalidad, formando parte del mismo lo construido, lo económico, social, cultural, tecnológico, en definitiva

todo lo existente incluyendo el propio hombre, que transforma el medio a la par que se modifica el mismo.

Debemos tener en cuenta que en las complejas relaciones que se establecen entre los diversos componentes del medio ambiente ya mencionados, un impacto ambiental local influye en la calidad global del mismo, lo que puede percibirse claramente con el cambio climático que se ha agudizado en los últimos años. Estas situaciones negativas están relacionadas de una u otra forma a causas políticas, económicas y sociales.

La ecología está estrechamente vinculada con el medio ambiente. Los seres vivos no se conciben sin el medio, seres y medios constituyen una unidad esencial. La ecología es, por tanto, el estudio de los seres vivientes y la forma como actúan entre sí y con el medio que los contiene. Incluye factores vivos o bióticos y elementos sin vida o abióticos.

Teniendo en cuenta la relación entre los distintos componentes del medio ambiente, debemos evaluar la influencia que ejercen en la existencia, la exposición y las propiedades de un agente biológico para provocar enfermedades, su diseminación, así como la adquisición de inmunidad individual, teniendo en cuenta además las características del hospedero y el papel de todos estos elementos en el estado inmunitario de una población dada.

## **Elementos bióticos**

### **✓ Microorganismos**

La enfermedad infecciosa es el resultado de una relación parasitaria entre el agente y el hospedero. En todas las relaciones hospedero-parásito, este debe ser capaz de establecerse exitosamente y multiplicarse, para ello debe soslayar las defensas inespecíficas y específicas del hospedero.

Aunque los humanos tienen sofisticados sistemas de defensa, los microorganismos han desarrollado diferentes mecanismos de patogenicidad para burlarlos, entre los mecanismos que los diferentes agentes infecciosos han perfeccionado se destacan los siguientes:

- Los que permiten la adhesión a las células epiteliales y la ulterior penetración y multiplicación.
- Mecanismos que facilitan la adquisición de nutrientes del hospedero.
- Inhibición del proceso fagocítico.
- Interferencia con la activación del sistema del complemento.

- Variación genética de antígenos de superficie.
- Inducción de inmunosupresión y autoinmunidad.
- Invasión de sitios anatómicos inmunológicamente privilegiados, es decir, protegidos de los mecanismos efectores humorales y celulares.

El patógeno más exitoso no es aquel que ocasiona un gran daño o hasta la muerte del hospedero, lo que conduce a su propia extinción, sino el que pueda desarrollarse hacia formas menos agresivas, de tal forma que causen sólo el daño necesario para mantener su fisiología, metabolismo y crecimiento. Las infecciones que se adquieren de animales son muy severas, ya que ellos constituyen el hospedero natural del microorganismo, siendo los humanos hospederos accidentales; por ello los agentes etiológicos de este tipo de enfermedades, como sucede con la leptospirosis, no han podido evolucionar hacia formas menos patogénicas.

La existencia de vectores incide directamente en la transmisión de enfermedades y se relaciona particularmente con otros elementos del medio ambiente, tal y como sucede con el paludismo, la fiebre amarilla o el dengue, característicos de climas tropicales húmedos con las condiciones apropiadas para la reproducción de mosquitos.

Otras características de los microorganismos, tales como los mecanismos involucrados en la producción de enfermedad y los tipos de respuesta inmune inducidos preferentemente, celular o humoral, y la timodependencia en estos últimos, deben también ser tenidos en cuenta para la predicción del comportamiento inmunoepidemiológico.

Pudiéramos resumir este punto recalcando que el delicado equilibrio entre los mecanismos de ataque del agente agresor y los de defensa del sistema inmune de un individuo dado, es vital para la supervivencia. Cuando los mecanismos defensivos son los vencedores, auxiliados o no por métodos inmunoprolácticos activos, y teniendo en cuenta además las características del agente, entonces puede modificarse apreciablemente la inmunidad poblacional.

#### ✓ **Hospedero**

La capacidad de la respuesta inmune en un individuo dado para resistir la agresión es esencial en la relación existente entre el agente y el hospedero, y deciden el curso de la enfermedad infecciosa.

La integridad del sistema inmune o inmunocompetencia es fundamental para la defensa contra organismos infecciosos y sus productos tóxicos. Los defectos en uno o en varios de los componentes de este sistema pueden provocar enfermedades graves, y a menudo mortales que se denominan inmunodeficiencias. Estas enfermedades pueden ser primarias o congénitas y más frecuentemente secundarias o adquiridas.

La principal consecuencia de la inmunodeficiencia es una susceptibilidad aumentada a las infecciones. Por lo tanto, para alcanzar la inmunidad contra cualquier agente agresor, se requiere de una adecuada inmunocompetencia.

Diversos factores pueden alterar la integridad del sistema inmune:

→**Edad.** En las edades extremas de la vida el sistema inmune no presenta una adecuada inmunocompetencia, por inmadurez del sistema inmune los lactantes presentan habitualmente una inmunodeficiencia transitoria que afecta fundamentalmente la inmunidad humoral, de ahí la importancia de la lactancia materna y la transferencia pasiva de inmunoglobulinas de la madre, fundamentalmente en el último trimestre del embarazo.

Los ancianos presentan la llamada inmunosenectud con alteraciones más bien cualitativas que cuantitativas de su inmunidad. Es evidente que la mayor parte de las funciones inmunológicas en los ancianos difieren de aquellas en poblaciones de jóvenes. La involución tímica y la declinación de la actividad de las hormonas tímicas se asocia con el envejecimiento.

En los ancianos se observa una disminución de la respuesta contra agentes extraños, y sin embargo aumenta la frecuencia de autoanticuerpos como el factor reumatoide, lo que está relacionado probablemente con alteraciones en los mecanismos de tolerancia periférica a los antígenos autólogos. El aumento de la susceptibilidad de las personas ancianas a las infecciones y las neoplasias es precisamente una consecuencia de la decadencia inmunológica.

→**Sexo.** El sexo femenino tiene una mayor capacidad de respuesta inmunitaria, relacionado con el papel de los estrógenos como inmunostimulantes. La cronología de la maduración sexual está relacionada con un cambio en el carácter de la respuesta inmunológica.

→**Raza.** No consideramos la existencia de razas comprometidas inmunológicamente, en todo caso, las determinadas susceptibilidades hacia algunas infecciones que se han observado a lo largo de la historia y que diezmaron poblaciones enteras, están más bien relacionadas con la ausencia de contactos previos con el agente infeccioso y por lo tanto carencia de inmunidad.

No obstante, las particularidades genéticas deben ser tenidas en cuenta a la hora de analizar la inmunocompetencia de algunas poblaciones, sobre todo lo concerniente a la composición del CMH, por su papel en la presentación antigénica, su relación con algunas enfermedades autoinmunes y la respuesta contra determinados inmunógenos, incluyendo los vacunales. Deben también evaluarse los principales grupos sanguíneos u otros marcadores que caractericen genéticamente una población y que de una u otra forma influyan en los mecanismos de la infección, patogenicidad e inmunidad, como sucede por ejemplo en la infección por el VIH. Las personas que heredan dos copias defectuosas del gen del receptor de quimioquinas CCR5 son resistentes al desarrollo del SIDA, este receptor se encuentra en los linfocitos T CD4+ y en células presentadoras de antígeno y es a su vez correceptor del VIH. La unión del VIH a sus correceptores es importante en la patogenia del virus. El primer paso de la infección consiste en la interacción de la glicoproteína gp120 de su envoltura con las moléculas CD4, lo que induce un cambio importante de la configuración que se traduce en la formación de un nuevo lugar de reconocimiento sobre gp120 para los correceptores de quimioquinas, su ausencia por lo tanto interfiere en ese proceso, que es necesario para la ulterior fusión del virus con la membrana celular.

→**Estado nutricional.** La desnutrición proteico-calórica es la principal causa de inmunodeficiencia secundaria en los países subdesarrollados. Se ha considerado el timo como un indicador del estado nutricional, al observarse que la atrofia tímica acompaña a este tipo de desnutrición, que afecta realmente no sólo a este órgano sino también a los órganos linfoides periféricos. Se observa que la división celular activa, característica de los tejidos linfoides, está disminuida en la desnutrición proteico-calórica.

Los individuos desnutridos tienen una elevada tendencia a la infección, en particular con micobacterias, virus y hongos, ya que la vertiente celular del sistema inmune es el más afectado. No es frecuente observar un defecto de la inmunidad humoral, aunque se afectan las respuestas contra antígenos que requieren de la cooperación de los linfocitos T y las CPA. Los individuos con desnutrición proteico-calórica también tienen alterada la actividad lítica de los neutrófilos y de los macrófagos, aunque el número de células y la fagocitosis pueden ser normales.

Las deficiencias prolongadas de aminoácidos, así como de ácidos grasos pueden afectar también todo el sistema inmune.

Algunas de las inmunodeficiencias observadas en individuos desnutridos pueden ser el resultado de la carencia de vitaminas y minerales en cantidad

Dr. Rolando Ochoa Azze

adecuada. En general las deficiencias vitamínicas afectan principalmente la inmunidad humoral, aunque las deficiencias de vitamina B12, ácido fólico, vitamina E, pero sobre todo de la vitamina B6 y la vitamina A se asocian además con inmunodeficiencia celular. La vitamina A es importante además para una adecuada producción de IgA secretoria. La vitamina C es necesaria para el adecuado funcionamiento de las células fagocíticas. Las deficiencias de zinc y de hierro se asocian a inmunodeficiencia celular.

Por otra parte, es evidente que la moderación y el equilibrio en la ingestión dietética de nutrientes son esenciales para una función inmunológica normal, la ingestión alimentaria excesiva puede alterar dicha función normal. Los individuos obesos tienen alterada la respuesta inmunológica celular y es menor la degradación intracelular de bacterias por los fagocitos.

De lo analizado en este punto podemos concluir que debe evaluarse con detalle el estado nutricional de una población dada, para predecir el comportamiento de la inmunidad poblacional en determinada región ante el estímulo inmunogénico.

#### ✓ **Otros elementos bióticos**

El ecosistema es la unidad que incluye la totalidad de los seres vivos de un área determinada. La flora y la fauna influyen en tanto su relación con los otros componentes bióticos ya descritos, en particular lo relacionado con la transferencia de energía entre los distintos organismos del ecosistema.

La alimentación es importante, no sólo en cuanto a su papel en el estado inmunitario del individuo, sino como vía para la adquisición de enfermedades, ya que el hombre está ubicado al final de varias cadenas alimenticias.

La existencia de enfermedades zoonóticas y las transmitidas por vectores, evidencia la estrecha relación entre todos los elementos del ecosistema.

#### **Elementos abióticos**

Comprenden las sustancias inorgánicas que existen sin necesidad de que un organismo vivo intervenga en su formación, algunas de ellas vitales para su metabolismo. Las formadas por la acción de los organismos mediante procesos metabólicos, así como los factores ambientales que influyen y a su vez son influidos por los organismos.

Estos factores comprenden el ambiente “material” que rodea a los seres vivos, contribuyen a crear un entorno favorable o no para su desarrollo. El

ambiente debe tener condiciones adecuadas de temperatura, humedad, luz, calor, oxígeno, dióxido de carbono, agua entre otros elementos que permitan la supervivencia humana, animal y vegetal.

Por su importancia es necesario destacar la influencia del clima, que se define como la sucesión de tipos de tiempo que tienden a repetirse con regularidad en ciclos periódicos. También se puede definir como el conjunto de condiciones atmosféricas que caracteriza una región. Existe una relación estrecha entre el clima y las enfermedades infecciosas, en correspondencia con las habituales variaciones estacionales que las caracterizan (influenza, por ejemplo), la mayor incidencia de algunas enfermedades relacionadas con inundaciones (leptospirosis), contaminación de fuentes de agua (cólera, fiebre tifoidea) y otras situaciones de catástrofes. El impacto ambiental negativo inducido por la acción del hombre influye en la distribución de muchas enfermedades, así como la mayor o menor susceptibilidad de las poblaciones de padecerlas.

### **Elementos económicos y socioculturales**

Existe una relación estrecha entre este componente del medio ambiente y los elementos bióticos y abióticos, teniendo en cuenta que el hombre transforma activamente el medio circundante, de tal forma el impacto ambiental se concentra y agrava en determinados lugares como consecuencia de causas políticas, económicas y sociales. Así ha ocurrido con la deforestación, la desertificación y el agotamiento de las fuentes de agua y de alimentos.

Las deficientes condiciones higiénico-ambientales derivadas del subdesarrollo y la falta de voluntad política para combatirlas, están íntimamente relacionadas con el desarrollo de enfermedades infecciosas, cuyas vías de transmisión están ligadas con alimentos y aguas contaminadas, así como las mediadas por vectores. La contaminación ambiental en los países desarrollados también ha incrementado el riesgo de enfermedades respiratorias, entre otras. Nadie está exento de sufrir las consecuencias de la irresponsabilidad medio ambiental que pone en peligro nuestra especie.

El cambio de patrones epidemiológicos en el comportamiento de algunas enfermedades está relacionado con ambientes socioeconómicos, políticos y culturales inadecuados, e incide directamente sobre la inmunidad poblacional. La inequidad en el acceso a los servicios de salud, la falta de educación y hábitos sanitarios inadecuados llevan a conductas de riesgo y a la vulnerabilidad de ciertos grupos poblacionales. Paradójicamente, factores

Dr. Rolando Ochoa Azze

sociales y culturales de otra índole en países desarrollados, vinculados de una u otra forma con el temor a los eventos adversos relacionados con la vacunación, han llevado a la disminución de las coberturas de inmunización, y como consecuencia, la aparición de brotes de enfermedades que en su momento habían sido controlados, tales como el sarampión y la tos ferina. La percepción negativa de la seguridad de este proceder inmunoproláctico, exacerbada en muchas ocasiones por los medios de comunicación, ha sido en sentido general exagerada y en muchas ocasiones completamente infundada. Los riesgos asociados con las vacunas son mucho menores que los relacionados con la propia enfermedad; por ello la OMS ha recomendado no detener las campañas previstas con las vacunas que estén adecuadamente certificadas.

En este capítulo abordamos algunos factores del medio ambiente que influyen en el proceso salud–enfermedad, así como en la inmunidad individual y de la población de la cual forma parte, demostrándose fehacientemente la interacción entre todos los componentes del medio ambiente, lo que se debe tener en cuenta para realizar un análisis inmunoepidemiológico objetivo.

## Capítulo 5

### Principales técnicas de laboratorio para explorar la inmunidad poblacional

La evaluación de la inmunidad poblacional puede hacerse por métodos serológicos, que ponen de manifiesto los anticuerpos formados frente a los diferentes antígenos del microorganismo y por pruebas para el estudio de la inmunidad celular.

#### Estimación serológica de la inmunidad poblacional

Los anticuerpos presentes en la población en estudios seroepidemiológicos, pueden ser medidos por técnicas in vivo e in vitro.

Las pruebas in vivo miden directamente la actividad biológica en animales de laboratorio, son sensibles y específicas, pero caras, requieren personal altamente entrenado, mucho tiempo, un gran número de animales y un volumen relativamente grande de suero para su ejecución.

La interacción entre los anticuerpos y los antígenos puede ser medida por diferentes ensayos in vitro. Los ensayos in vitro funcionales o biológicos, aunque menos engorrosos que los in vivo resultan laboriosos, pero tienen la virtud de correlacionarse con protección, los no funcionales son simples, sensibles, rápidos y menos caros, sin embargo no evidencian directamente las funciones biológicas de los anticuerpos. Por lo tanto, los resultados de estas técnicas deben ser interpretados cuidadosamente y verificados contra los métodos in vivo.

Las técnicas ex vivo simulan los diversos mecanismos que ocurren in vivo, son procedimientos muy ingeniosos y nuevos que como principal virtud tienen el imitar en condiciones de laboratorio procesos, tales como la bacteriemia, que ocurren solamente en seres vivos.

A continuación se describen las principales técnicas que pueden ser utilizadas para la evaluación de la inmunidad:

## **Métodos in vivo**

Estos bioensayos miden la respuesta de anticuerpos usando un modelo animal.

Los ensayos de neutralización se basan en la propiedad neutralizante de los anticuerpos séricos sobre dosis conocidas de antígeno, como es el caso de la toxina tetánica, la cual al quedar libre se detecta en animales de laboratorio, generalmente ratones.

Estos métodos pueden dividirse en tres grupos. El primero se basa en la relación estrecha entre el tiempo promedio de supervivencia y la cantidad de toxina no neutralizada que todavía está presente en la mezcla suero-toxina. El tiempo exacto es medido durante el período de cinco días que sigue a la inyección de la mezcla de toxina y diferentes diluciones de suero. Estas técnicas requieren pocos materiales pero frecuentes observaciones.

El segundo grupo se basa en la proporción de ratones que mueren y sobreviven al final de un período determinado de tiempo después de inocular la mezcla suero-toxina. La principal desventaja es que se requiere un gran volumen de suero cuando la concentración de anticuerpos es baja.

El tercer grupo se basa en la discriminación entre la presencia de síntomas, por ejemplo parálisis de la pata del ratón inyectado con la mezcla suero-toxina, y la neutralización completa de los síntomas. Este método requiere una menor cantidad de suero, pero es menos exacto y sensible.

La capacidad dermonecrótica de algunos antígenos, como la toxina diftérica, es decir la capacidad de producir una reacción inflamatoria cuando se inyecta intradérmicamente en personas o animales, ha sido usada en ensayos de neutralización in vivo; en el primer caso tenemos la prueba de *Schick*, no usada hoy en día para estos fines, principalmente por motivos éticos. Estos ensayos se realizan en conejos o cobayos, inyectando diferentes diluciones del suero con cantidades fijas de toxina en la piel depilada de los animales. La concentración de antitoxina se estima según la ausencia o presencia de la reacción inflamatoria.

Los resultados de estas pruebas dependen de la avidéz del antisuero, la concentración de la toxina y las especies de animales usadas, lo que representa una desventaja adicional a las descritas.

La aplicación de los métodos in vivo en los estudios seroepidemiológicos está limitada por las restricciones obvias para procesar un elevado número de muestras, por lo que en la práctica no se emplean, sin embargo los ensayos in

vivo al explorar la capacidad funcional de los anticuerpos pueden utilizarse en estudios restringidos para apoyar resultados obtenidos con técnicas in vitro.

### **Métodos in vitro**

Estos métodos detectan no solamente anticuerpos funcionales, sino también pueden revelar reacciones entre otros sistemas antígeno-anticuerpo, por lo que deben ser calibrados cuidadosamente con los ensayos in vivo cuando estén disponibles, o evaluar su respuesta en estudios clínicos de eficacia vacunal o inmunoepidemiológicos. Los ensayos in vitro pueden ser funcionales o no funcionales.

#### **✓ Ensayos in vitro funcionales**

→**Prueba de neutralización en cultivo de tejidos.** Se basa en la observación de que la supervivencia de células en cultivo se inhibe por la presencia de antígeno. Este efecto es neutralizado cuando el anticuerpo específico está presente en las muestras de suero analizadas. Se preparan diferentes diluciones de suero y se mezclan con el antígeno, se añaden las células y después de incubar, los resultados se manifiestan como un cambio de color debido a la formación metabólica de ácidos que modifican el pH.

→**Ensayo bactericida en suero.** La determinación de la actividad bactericida involucra la exposición de un organismo viable a una concentración adecuada de anticuerpo y complemento, incubación a la temperatura óptima y determinación, después de un período apropiado de tiempo, de la cantidad de organismos vivos. Este ensayo ha sido usado eficazmente para evaluar la protección contra *Neisseria meningitidis*.

→**Otros ensayos funcionales.** Aunque con menor frecuencia, por ser menos apropiados para estudios masivos, se han empleado otras técnicas, entre las que destacamos la opsonofagocitosis y la inhibición de la adherencia. El primero se basa en que la ingestión de bacterias y partículas requiere de un contacto íntimo entre éstas y la membrana del granulocito neutrófilo, proceso favorecido por la acción de opsoninas séricas, o bien derivadas del sistema del complemento o inmunoglobulinas de la clase IgG. La opsonofagocitosis determina la presencia adecuada de opsoninas en el suero del individuo. La adherencia de los microorganismos es uno de los factores de virulencia más importante y un paso crítico en la colonización y posterior diseminación. Los mecanismos efectores de la inmunidad de mucosa, fundamentalmente IgA

secretoria, están encaminados a impedir la adhesión del microorganismo a sus receptores celulares específicos. La inhibición de la adherencia demuestra la existencia de un apropiado nivel de antiadhesinas.

#### ✓ **Ensayos in vitro no funcionales**

→**Reacciones de agregación.** En estas reacciones, cuando todos los sitios de unión del antígeno y el anticuerpo están utilizados, se forma un retículo que puede exteriorizarse por la precipitación o aglutinación del inmunocomplejo. Las reacciones de precipitación pueden realizarse en medio líquido o más frecuentemente en medio sólido. Entre estas últimas tenemos la doble inmunodifusión, la inmunodifusión radial simple y procedimientos electroforéticos como la inmunolectroforesis y la contraímmunolectroforesis. Estos métodos tienen como principal desventaja su insuficiente sensibilidad. En las técnicas de aglutinación pasiva se han empleado eritrocitos, o partículas de látex u otro material, sensibilizadas con el antígeno y que aglutinan en presencia de anticuerpos específicos. Son pruebas rápidas y que requieren un equipamiento sencillo. La principal desventaja radica en su preferencia hacia anticuerpos de clase IgM y en su baja correlación con los ensayos in vivo a pequeñas concentraciones de anticuerpos.

→**Radioinmunoanálisis (RIA).** Esta técnica ha sido usada para la cuantificación de anticuerpos, generalmente empleando una fase sólida (radiometría) para fijar los antígenos de captura para los anticuerpos específicos, que a su vez son detectados por un conjugado anti-inmunoglobulina humana marcada con un isótopo radioactivo. Es alta la sensibilidad y detectabilidad en estos ensayos, sin embargo sus reactivos y equipamiento son caros, la técnica requiere de personal altamente entrenado y el material radioactivo representa un riesgo potencial.

→**Inmunoensayos enzimáticos.** El ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) resulta la técnica de elección entre los ensayos in vitro no funcionales, su sensibilidad y detectabilidad son semejantes al RIA y puede procesarse lo mismo un número pequeño que grande de muestras.

Los inmunoensayos constituyen el desarrollo ulterior de los radioinmunoensayos, en lugar de los peligrosos radioisótopos de corta vida media, se emplean enzimas como sustancias marcadoras. Estos ensayos se apoyan en tres características biológicas fundamentales: la extraordinaria especificidad de los anticuerpos, el elevado poder catalítico de las enzimas y el particular mecanismo de acción que ejercen sobre sus substratos. Mediante la

combinación de la reacción inmunológica con un indicador altamente sensible, el débil efecto inmunológico se ve reforzado por la amplificación enzimática, de forma que se consigue una elevada sensibilidad y detectabilidad; si a esto le añadimos la especificidad de la reacción inmunológica se podrá comprender su aplicabilidad en el diagnóstico clínico. La reacción antígeno-anticuerpo se detecta generalmente mediante un cambio de color o la emisión de luz, producidos por la interacción de la enzima y su sustrato. Ambos efectos son cuantificables y proporcionales a la intensidad de la interacción. El uso de sustratos de depósito permite la visualización de los resultados y es muy utilizado sobre membranas.

### **Principales técnicas ELISA en estudios seroepidemiológicos**

El principio de ensayo del ELISA indirecto se basa en que los anticuerpos en la muestra reaccionan y forman un complejo con los antígenos adsorbidos a la fase sólida, y son detectados por un conjugado anti-inmunoglobulina/enzima. La cantidad de enzima enlazada indica la cantidad de anticuerpos en el suero y puede ser medida por la degradación de su sustrato. Cuando la concentración de anticuerpos es baja, los resultados del ELISA indirecto correlacionan poco con los ensayos in vivo, ya que tiende a sobrestimar los sueros de bajos títulos, probablemente esto se deba a la presencia de inmunoglobulinas inespecíficas o anticuerpos de baja afinidad. Este método es el de elección para detectar anticuerpos de clase IgG o IgA, la IgM puede estudiarse previa absorción de los anticuerpos IgG, aunque este isotipo debe estudiarse preferentemente con ensayos de captura IgM. Los ensayos indirectos presentan una alta detectabilidad que depende de la densidad de epítomos de relevancia diagnóstica presentes en la fase sólida.

Otra alternativa ha sido los ensayos de inhibición de antígeno, que en este caso se basan en la detección del antígeno no enlazado por anticuerpos específicos adsorbidos en la fase sólida. En otros ensayos competitivos, los antígenos son inmovilizados sobre la fase sólida y la unión con el conjugado anticuerpo/enzima, es inhibida por la presencia de anticuerpos en la muestra. En general la sensibilidad y detectabilidad de estos ensayos son inferiores a los indirectos y son muy laboriosos, sobre todo si se requiere procesar un gran número de muestras, aunque tienen la ventaja de favorecer la interacción antígeno-anticuerpo cuando se realiza en la fase líquida, correlacionando habitualmente bien con los ensayos in vivo.

Los ensayos de doble antígeno, al igual que los indirectos, emplean antígenos de captura, pero en este caso en lugar de un conjugado anti-

Dr. Rolando Ochoa Azze

inmunoglobulina/enzima, usamos antígeno/enzima, de esta forma se alcanza la máxima sensibilidad y detectabilidad al no ser necesario diluir las muestras, sin embargo detectamos todas las clases de inmunoglobulinas, lo que en ocasiones no es deseable, sobre todo teniendo en cuenta que una respuesta de anticuerpos IgG es la habitualmente explorada, ya que es el isotipo característico de la respuesta secundaria y el que se relaciona con una protección de mayor duración.

Los ensayos de captura deben usarse si se desea estudiar, mediante la detección de IgM, la respuesta primaria inducida por inmunógenos timodependientes, o la producción de IgM en los timoindependientes, estos ensayos son también usados en el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Los anticuerpos anti IgM inmovilizados capturan la IgM de la muestra que a su vez reacciona con el antígeno conjugado con una enzima, o sin marcar, lo que requiere de un paso adicional con un anticuerpo marcado. De esta forma se verifica si están presentes los anticuerpos específicos para el isotipo capturado.

La selección de uno u otro principio depende principalmente de los propósitos del ensayo. Para realizar estudios seroepidemiológicos de enfermedades inmunoprevenibles, deben valorarse los ensayos sandwich doble antígeno o los de inhibición, cuyas ventajas hemos descrito, aunque es insustituible el ensayo indirecto con el uso de conjugados específicos de clase, sobre todo IgG, o IgA cuando se requiera evaluar la inmunidad de mucosa.

### **Métodos ex vivo**

Son ensayos in vitro que simulan los procesos que ocurren in vivo.

El ensayo de sangre total es un modelo de bacteriemia que evalúa las interacciones de la bacteria y el hospedero. La habilidad del microorganismo de sobrevivir en la sangre depende, entre otros factores, de los atributos patogénicos y del estado fisiológico de la célula bacteriana cuando penetra en el torrente sanguíneo.

En este estudio se realiza la unión de la sangre a evaluar con la bacteria cuando la célula se encuentra en su fase exponencial de crecimiento. Este modelo es una medida sensible de actividad bactericida, que integra la actividad opsonizante de los anticuerpos, de las opsoninas derivadas de la activación del sistema del complemento, y la fagocitosis ulterior, además de la lisis mediada por anticuerpos y el complemento autólogo. Se ha usado eficazmente para evaluar la respuesta antimeningocócica, siendo una

herramienta más sensible que los clásicos ensayos bactericidas en suero. Como limitante podemos señalar su laboriosidad, su ejecución inmediata al muestreo, y el poco número de muestras que pueden procesarse en cada jornada.

### **Valoración de la respuesta celular**

La valoración directa del funcionalismo de la vertiente celular del sistema inmune es difícil, por lo que se han empleado técnicas indirectas tales como el ensayo ELISPOT que permite detectar células linfoides específicas a un antígeno dado, así como la evaluación de respuestas funcionales de células T activadas por antígenos, incluyendo la producción de citocinas. Las técnicas para evaluar la inmunidad celular tienen como dificultad adicional la limitación al procesamiento de un número grande de muestras como las que usualmente se procesan en estudios inmunoepidemiológicos.

Los ensayos más adecuados para evaluar la inmunidad mediada por células siguen siendo las pruebas in vivo cutáneas de hipersensibilidad retardada. Estos ensayos consisten en la inyección intradérmica de los antígenos a los cuales se desee evaluar la respuesta celular, teniendo por supuesto en cuenta que procedan de microorganismos cuyos mecanismos de defensa principales sean celulares, como es el caso de la infección por *Mycobacterium tuberculosis* y por hongos. Este fenómeno se apoya principalmente en el reclutamiento de macrófagos y polimorfonucleares por parte de las células T activadas por el antígeno.

### **Otras pruebas**

Algunos estudios inmunoepidemiológicos requieren la evaluación estructural y funcional del sistema inmunitario, incluyendo los mecanismos efectores de amplificación. La determinación de los antígenos de histocompatibilidad predominante en una población, o en aquellos individuos con respuesta deficiente, puede ser un procedimiento de interés, avalado por el papel de estas moléculas en la presentación antigénica.

Para valorar racionalmente la inmunidad poblacional debe establecerse el diagnóstico etiológico de la enfermedad infecciosa de interés, por métodos directos mediante la visualización, el aislamiento e identificación del agente o mediante la detección de sus antígenos, metabolitos u otros componentes estructurales. Estos métodos pueden ser procedimientos microbiológicos convencionales, inmunológicos o técnicas modernas de biología molecular, especialmente útiles en la detección de agentes biológicos difícilmente

Dr. Rolando Ochoa Azze

cultivables, poco detectables por otros procedimientos, así como para una adecuada clasificación genotípica en aquellos casos que lo requieran. La correcta detección de subtipos bacterianos es la base del control epidemiológico de brotes infecciosos. Los métodos de subtipaje pueden ser fenotípicos y genotípicos. La importancia de estos últimos está dada en que distinguen cepas de igual fenotipo sobre la base de diferencias en sus moléculas de ADN. Dentro de los métodos genotípicos, vitales para la epidemiología molecular y la inmunoepidemiología, se destacan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la secuenciación de ADN y la electroforesis en campo pulsante.

Para el diagnóstico, también pueden emplearse métodos indirectos, en los cuales se valora la respuesta inmune frente al microorganismo causal; bien por métodos serológicos que ponen de manifiesto los anticuerpos formados frente a los diferentes antígenos, como por pruebas para el estudio de la inmunidad celular, similares a las ya descritas. Cuando se usan métodos indirectos, hay que distinguir entre la respuesta inmune inducida por la vacunación, por la exposición al agente infeccioso, o reactividad cruzada con otros microorganismos.

### **Reporte de los resultados**

El reporte de los resultados puede darse en forma cualitativa, semicuantitativa o cuantitativa, aunque siempre es preferible emplear ensayos cuantitativos para estudios inmunoepidemiológicos.

La concentración de los antígenos presentes en los diversos microorganismos puede ser determinada a partir de curvas dosis/respuesta. Sin embargo, las curvas tanto para antígenos como anticuerpos u otros efectores de la respuesta inmune son sigmoidales, siendo su parte más sensible la pequeña zona de mayor pendiente. Además de esta limitación, las curvas de anticuerpos son complicadas ya que son difíciles de describir con la ley de acción de masas, porque no es predecible la avidez ni la cantidad real de los inmunoreactantes.

### **Criterios de evaluación**

Se usan generalmente dos criterios: valoración del incremento de los títulos de los efectores evaluados o estimación del grado de protección, siempre y cuando puedan establecerse apropiados correlatos de protección.

Cuando no se conoce con exactitud cuál es el umbral de protección, se estudia la respuesta pre y postexposición al agente infeccioso o al inmunógeno vacunal. Esto puede hacerse simplemente aplicando las pertinentes pruebas estadísticas según el tipo de variable empleada, aunque habitualmente se analiza la seroconversión, definida como un aumento significativo de los títulos.

Para los estudios inmunoepidemiológicos es importante conocer los correlatos de protección ya que permite trabajar con muestras no pareadas y evaluar con exactitud el nivel mínimo de efectores protectores. En ocasiones puede establecerse un gradiente de concentración que permite clasificar a los individuos por grado de protección. Una vez obtenidos los resultados se calculan las medias geométricas e intervalos de confianza al 95% de cada distribución, previa normalización logarítmica, teniendo en cuenta que los efectores de la respuesta inmune en un contexto poblacional se distribuyen generalmente de forma no-Gaussiana. Se determina el porcentaje de individuos protegidos o no, así como el intervalo de confianza al 95% de proporciones.

Las pruebas de hipótesis se emplean también con el objetivo de determinar la existencia o no de diferencias significativas para un grado de probabilidad determinado, generalmente del 5%, en diferentes tiempos de un estudio longitudinal determinado o cuando se comparan diferentes muestras. El valor P es la probabilidad de obtener un estadígrafo igual o mayor que el calculado con los datos, suponiendo que en realidad no hay diferencia entre los grupos. En otras palabras, el valor P es la probabilidad de equivocarse al afirmar que existe una diferencia verdadera. Así, si este valor es mayor al 5% ( $P > 0,05$ ) no rechazamos la hipótesis nula y concluimos que los grupos comparados son estadísticamente similares según los enunciados establecidos en cada caso.

La estimación de los intervalos de confianza es extremadamente útil, y aunque las pruebas de hipótesis mantienen su vigencia, en la investigación biomédica es más importante conocer la magnitud de la diferencia y no una simple indicación de si esta es o no estadísticamente significativa. Debe tenerse en cuenta que pequeñas diferencias sin interés real pueden ser significativas, mientras que efectos clínicamente importantes pueden no serlo. Por otra parte, la determinación de un intervalo de confianza y la realización de una prueba bilateral de hipótesis son dos procedimientos estadísticos estrechamente relacionados. Cuando se determina el intervalo de confianza es posible deducir el resultado de la prueba de hipótesis al nivel correspondiente de significación estadística.

## **Control de calidad de las pruebas empleadas en estudios inmunoepidemiológicos**

Ante una técnica debemos conocer sus principales parámetros para una mejor evaluación de los resultados:

*Precisión:* Es el grado de cercanía o dispersión de los datos obtenidos para una muestra procesada varias veces. La repetibilidad o reproducibilidad de un resultado.

*Exactitud:* Es el grado de identidad de los valores analíticos obtenidos con cierto método y el contenido real del analito en la muestra, dicho en otras palabras, la aproximación del resultado obtenido a su verdadero valor.

*Sensibilidad:* Proporción de muestras positivas o reactivas correctamente identificadas por la prueba empleada.

*Especificidad:* Proporción de resultados realmente negativos o no reactivos.

*Eficacia:* Es la capacidad general de un ensayo para detectar correctamente todos los positivos y negativos.

Es importante conocer, además, cuál es la posibilidad de que un resultado positivo o reactivo, según el objetivo de la técnica, sea diagnóstico de infección, alcance una correcta identificación del agente biológico, evidencie el real estado inmunitario, o detecte algún otro marcador importante para estudios inmunoepidemiológicos y, al contrario, que uno negativo sea excluyente. Son los valores predictivos positivo y negativo respectivamente, que dependen tanto de la sensibilidad y especificidad de la técnica como de la prevalencia de los elementos estudiados. El valor predictivo positivo aumenta con la prevalencia y disminuye con ella.

Contar con las herramientas apropiadas de evaluación es un requisito absolutamente necesario si se pretenden realizar estudios inmunoepidemiológicos, de ahí la importancia de una adecuada selección, atendiendo a los principios de la técnica, así como del cabal conocimiento de sus posibilidades y limitaciones.

## Capítulo 6

### Importancia de la inmunoepidemiología en la vacunología

#### Inmunoepidemiología y vacunación

La decisión de incluir determinadas vacunas en los programas de inmunización depende de una u otra forma de las características inmunes de la población, propiedades del agente infeccioso, su circulación, las probabilidades de diseminación, así como la existencia de medidas de control apropiadas y el entorno político, económico, geográfico, raíces culturales y nivel educacional.

Sin embargo, el estudio de la inmunidad poblacional es imprescindible para evaluar la eficacia de un esquema de vacunación establecido, definir la necesidad de modificar los protocolos primarios de inmunización, incluir refuerzos apropiados, o disminuir la periodicidad de su aplicación.

La selección de un inmunógeno vacunal está relacionada con la vertiente del sistema inmune más idónea para prevenir la infección, incluyendo los mecanismos implicados en la vía de entrada del agente biológico y los órganos diana. De todo ello depende la metodología que debe emplearse para el control de la inmunidad.

La inmunoepidemiología cobra una particular importancia cuando se observa que la respuesta contra inmunógenos obtenidos de cepas con un genotipo determinado induce insuficiente reactividad cruzada; en estos casos debe incrementarse la vigilancia dirigida a la circulación de otras cepas del mismo microorganismo, con peligro potencial de epidemias, y por otra parte orienta a la selección de una cepa vacunal más apropiada. Debe también controlarse la ocupación del nicho ecológico por otros gérmenes, una vez alcanzada la inmunidad posvacunación, incluido los casos en que se elimine el estado de portador.

En determinadas circunstancias puede surgir la necesidad de modificar los programas de vacunación existentes mediante la sustitución de unas vacunas por otras con características diferentes, según las condiciones particulares de un país o región, el agente, su patogenicidad y la inmunidad que se desee

Dr. Rolando Ochoa Azze

inducir; de mucosa o sistémica, con timodependencia, a predominio de la inmunidad humoral o celular. Es el caso de las estrategias diferentes contra la poliomielitis, en que los países desarrollados, con elevadas coberturas de inmunización, han incluido la vacuna IPV combinada con otros inmunógenos, para, como ya se discutió en el capítulo 3, disminuir los riesgos de parálisis inducida por la OPV, que por otra parte continúa siendo la más empleada en los países subdesarrollados para eliminar este flagelo, vacuna de fácil aplicación e inductora de una excelente inmunidad de mucosas, acorde con la vía de entrada del poliovirus.

### **Inmunoepidemiología en la emergencia y reemergencia de enfermedades**

La vigilancia inmunoepidemiológica es útil para el análisis de la emergencia y reemergencia de enfermedades. En la prevención de estas últimas es vital la detección de grupos susceptibles para de esta forma emplear el arsenal inmunoproláctico pertinente.

Se entiende por enfermedades reemergentes aquellas que en su momento dejaron de ser un problema de salud producto de los progresos en su control y prevención y que al romperse el equilibrio entre el agente causal y estas medidas, debido a pérdida de inmunidad, resistencia antibiótica, detrimento de los sistemas de salud o al cambio climático, surgen nueva y habitualmente de forma más severa o con características cualitativas diferentes, lo que constituye un serio problema de salud. Para el mundo actual es una preocupación la aparición de enfermedades reemergentes prevenibles por vacunación. La importancia de la inmunoepidemiología en la vacunología puede ser mejor comprendida al analizar la reemergencia de la difteria.

La difteria es una enfermedad bacteriana en la que las manifestaciones clínicas resultan de la acción de una sustancia extracelular (exotoxina) producida por *Corynebacterium diphtheriae*. Esta enfermedad es adquirida a través del contacto personal. La letalidad de la difteria se debe a su toxina y la inmunidad contra la misma es mediada por anticuerpos, principalmente anticuerpos contra la toxina, a los cuales se les llama antitoxina. Estos anticuerpos son fundamentalmente de clase IgG, que se distribuyen por todo el organismo y tienen la posibilidad de atravesar la placenta, confiriendo inmunidad pasiva al recién nacido durante los primeros meses de vida.

Esta enfermedad puede aparecer también en personas previamente vacunadas, de aquí que el conocimiento de la duración de la inmunidad sea de crucial importancia para el diseño de programas de vacunación efectivos.

Para la difteria existe una buena correlación entre la protección clínica y la presencia de antitoxina en suero, ya sea por la enfermedad, el estado de portador o por la inmunización con el toxoide. Por técnicas de neutralización in vivo, se consideran absolutamente no protectores las concentraciones de anticuerpos menores de 0,01 UI/mL (Unidad Internacional por mililitro). Niveles no adecuados o no confiables para conferir protección entre 0,01 y 0,10 UI/mL; de ahí que usualmente se emplee como valor para el análisis el umbral de 0,10 UI/mL, sobre todo cuando se utilizan técnicas inmunoenzimáticas para su evaluación, mientras que son necesarios altos títulos ( $> 0,10$  UI/mL) para una protección confiable. La mayor parte de los autores considera que los niveles  $>1,0$  UI/mL corresponden a una protección confiable de larga duración.

En la aparición de brotes epidémicos han incidido varios factores, entre ellos la ausencia de un adecuado nivel inmunitario en la población, la magnitud de la exposición y virulencia del bacilo de la difteria, así como la deficiente situación socioeconómica, que por una parte limita las campañas de vacunación y por otro hace críticas las medidas higiénico-epidemiológicas necesarias para limitar la enfermedad. De ahí que la difteria, como enfermedad, estuviera restringida por mucho tiempo a la población menor de 15 años en los países subdesarrollados.

Se puede decir que los que sobreviven a esta enfermedad en los países más pobres adquieren la inmunidad de forma natural, la cual se mantiene por la exposición antigénica continuada, por lo que prácticamente no aparecen brotes epidémicos más allá de la adolescencia. Sin embargo en los países industrializados, los altos niveles de inmunización en niños han provocado la disminución de la circulación del *C. diphtheriae*, por lo que hay menos posibilidades de reforzar la inmunidad por exposición natural, apareciendo grupos de individuos adultos no inmunes con condiciones ideales para brotes epidémicos.

En las décadas de 1980 y 1990 se detectó que en algunos países industrializados, menos del 50% de los adultos presentaban una adecuada inmunidad contra la difteria. Los grupos de edad con los valores más bajos de antitoxina diftérica correspondían a los adultos entre 20 y 40 años de edad en Alemania y Japón, los de 40 a 50 años en Australia e Inglaterra y en los mayores de 50 años en Dinamarca, Finlandia, Suecia y EUA. A pesar de ello

no ocurrieron brotes epidémicos en estos países, lo que está relacionado con condiciones económicas favorables y la inmediata implementación de un programa de vacunación con la formulación para adultos de la vacuna bivalente de toxoide tetánico y diftérico. Sin embargo, en las antiguas repúblicas soviéticas, principalmente en la Federación Rusa, han ocurrido brotes epidémicos de difteria, que se han asociado principalmente a los bajos niveles de inmunidad de estas poblaciones. Estos brotes se expandieron como pólvora a los países vecinos de Europa Oriental, siendo Polonia el más afectado. En los últimos años del siglo XX, esta enfermedad se ha arraigado de forma endémica en esta región y se mantienen los brotes epidémicos.

En estos países disminuyó la cobertura de inmunización, quedando la población infantil desprotegida. También son particularmente vulnerables los adultos que han perdido su inmunidad como consecuencia de los programas de inmunización vigentes durante el período socialista. En esa etapa prácticamente se suprimió la circulación del *C. diphtheriae* y por ende la estimulación natural, que sí está presente en los países del Tercer Mundo. En la situación actual esta circunstancia es contradictoria, ya que al disminuir la inmunidad en la población adulta, junto al deterioro de las condiciones sanitarias derivadas de la situación socioeconómica, relacionadas entre otras causas con el incremento del movimiento de la población desde áreas rurales hacia la urbana, los conflictos bélicos, el hacinamiento, la falta de higiene y puestos en contacto con la bacteria, han creado el medio óptimo para la diseminación de enfermedades. En 1980 Europa era responsable de menos del 1% del total de casos mundiales de difteria. En 1994 reportó cerca del 90% de los casos, la inmensa mayoría en la Federación Rusa (80%) y otros países de la antigua URSS y del este europeo.

En épocas precedentes se crearon condiciones similares que nos permitieron comprender la influencia de estos factores de riesgo en brotes de diferentes enfermedades. La peste bubónica diezmo la Europa Medieval. En la Primera Guerra Mundial se solapó otro conflicto, entre el virus de la influenza y la humanidad, en el que murieron millones de personas. En Cuba, la reconcentración en la Guerra de Independencia desató en 1898 una gran epidemia de cólera en La Habana, en la que murieron un sinnúmero de personas.

Si analizamos el comportamiento de la difteria en Cuba, se puede apreciar que en la etapa prerrevolucionaria la difteria constituía un azote en la población infantil, dada las pésimas condiciones en la infraestructura socioeconómica prevaleciente en la mayoría de la población. En la etapa

revolucionaria se establecen estadísticas confiables, observándose en 1962 elevados valores de morbilidad (1469 enfermos) y mortalidad (75 fallecidos), año en el que se iniciaron las campañas de vacunación. En 1964 la cobertura de inmunización ascendió al 60%, en 1970 sólo se reportaron 7 casos de difteria con 1 fallecido, y ya en 1974 la vacunación abarcó al 75–80% de la población. A partir de 1980 no se reportan enfermos ni muertes por difteria como consecuencia de la política inmunitaria y otras medidas de control. Es interesante observar cómo el aumento de la cobertura de inmunización y del control epidemiológico, se traduce en cambios progresivos, dados por una disminución primero de la morbilidad y mortalidad y luego desaparición de la enfermedad.

La ausencia de la enfermedad en Cuba propicia la pérdida de la reestimulación natural y la aparición de individuos no inmunes, tal y como sucedió en aquellos países con políticas de inmunización similares; si a ello añadimos que en el último decenio del siglo XX se introdujeron cambios notables en prácticamente todas las esferas de la sociedad, dada por las dificultades económicas y las sociales como consecuencia de la desaparición del Campo Socialista Europeo, la URSS y el bloqueo económico, impuesto por Estados Unidos, es fácil comprender la necesidad de conocer la existencia o no de poblaciones vulnerables, para lo cual se diseñaron diferentes estudios seroepidemiológicos.

En 1999 se estudió una muestra representativa de la población del municipio Alquizar, en la provincia de La Habana. Se encontró un alto nivel de inmunidad contra la difteria en las primeras edades, atribuido a la alta cobertura de vacunación hasta los 5–6 años de edad, sin embargo no cubre las edades superiores acorde con nuestro esquema nacional. Se detectó que el 29,05% de los individuos mayores de 20 años no estaban protegidos adecuadamente y sólo el 4,53% poseían una protección de larga duración.

Durante el año 2002 se evaluó una muestra de recién nacidos en Ciudad de La Habana. Se encontró una inmunidad confiable tan sólo en el 48,88% de los recién nacidos, de estos, sólo el 1,29% presentaban respuesta de larga duración. La insuficiente inmunidad antidiftérica encontrada en los recién nacidos refleja las deficiencias en la transferencia pasiva transplacentaria, y por ende una insuficiente inmunidad en sus madres.

Podemos concluir acerca de estos estudios que las condiciones que pueden propiciar la aparición de la difteria como una enfermedad reemergente justifica la modificación de la política inmunitaria cubana, mediante la sustitución de los refuerzos con toxoide tetánico a partir de la adolescencia, por la bivalente

Dr. Rolando Ochoa Azze

para adultos de toxoide tetánico y diftérico en el Esquema Oficial de Vacunación de la República de Cuba, lo que a su vez aceleró el desarrollo de la vacuna respectiva.

### **Inmunoepidemiología y predicción de la inmunidad**

La inmunoepidemiología no sólo es importante en el diagnóstico puntual de la inmunidad poblacional, sino en la predicción del comportamiento longitudinal de la inmunidad luego de la exposición inmunogénica.

Para una estimación aproximada de la inmunidad poblacional es necesario tener en cuenta las características del inmunógeno vacunal, la vertiente del sistema inmune preferentemente estimulada, la timodependencia o no de la respuesta inducida e incluso la clase y subclase de inmunoglobulinas que se producen. Las condiciones medioambientales, fundamentalmente las inherentes al hospedero y la influencia del resto de sus componentes sobre el mismo, deben también ser valorados a profundidad.

El empleo de modelos matemáticos es esencial para este fin, sin embargo, resulta muy difícil su diseño, teniendo en cuenta el carácter no-lineal de la respuesta inmune, basada precisamente en la individualidad que la caracteriza y las particularidades del entorno que inciden activamente sobre este sistema. Se requieren, por tanto, cálculos complejos, no necesariamente representativos de toda la población de un país, región o área geográfica determinada, lo que constituye una limitante. La definición de estos modelos constituye un reto necesario, ya que nos permitiría evaluar con gran antelación los riesgos de enfermedad y decidir las adecuadas medidas de intervención, incluyendo la inmunización profiláctica, lo que sería muy útil en la organización de los servicios de salud. Pudieran también establecerse para pronosticar la evolución de la infección bajo la influencia de la respuesta inmune en el caso de vacunas terapéuticas.

La inmunización materna y la predicción del paso transplacentario de anticuerpos es también necesario para el control de las enfermedades inmunoprevenibles durante los primeros meses de vida, en los que el sistema inmune no ha madurado completamente. La placenta humana regula la transferencia de anticuerpos de la madre al feto, la que es fundamentalmente mediada por transporte activo, en el que el receptor Fc- $\gamma$  neonatal, identificado y caracterizado en células trofoblásticas humanas, desempeña un papel esencial.

La magnitud de transferencia de anticuerpos reportada es variable y depende entre otros aspectos del estado inmune de la madre, relacionado a su vez con diferentes elementos medioambientales, así como del nivel de desarrollo fetal. Se ha demostrado que existe correlación entre la transferencia de IgG y la edad gestacional. La mayor concentración de anticuerpos maternos se adquiere durante el tercer trimestre del embarazo, por lo que en los partos pretérminos se alcanzan bajos niveles de IgG en el recién nacido, lo que contribuye a su vulnerabilidad a las infecciones. También se ha observado que las deficiencias nutricionales en las embarazadas representan un factor de riesgo que incrementa también las posibilidades de infección.

Por todo ello resulta particularmente complejo el desarrollo de modelos matemáticos para pronosticar a priori con exactitud los niveles de IgG presentes en el neonato, aunque es generalmente aceptado que hay una relación directamente proporcional entre los niveles de anticuerpos de la madre y los del recién nacido, en lo cual se ha basado el control del tétanos neonatal, lo que avala que la inmunización materna como estrategia de intervención puede extenderse hacia otras enfermedades.

### **Inmunoepidemiología y ensayos clínicos de vacunas**

Entendemos por ensayos clínicos de vacunas los estudios sistemáticos en seres humanos con el fin de demostrar la seguridad, reactogenicidad, inmunogenicidad y protección de los productos biológicos que reúnen esa condición. Los términos ensayo clínico y estudio clínico son sinónimos.

La inmunoepidemiología es necesaria para caracterizar la población blanco del candidato vacunal, de extrema importancia tanto para el desarrollo farmacológico como para la estimación preliminar de esquemas, así como para una evaluación más objetiva del tamaño muestral y la evaluación de los resultados obtenidos en los ensayos clínicos.

Estos ensayos se clasifican generalmente en cuatro fases, cada una de ellas es funcional y los términos no son definidos sobre una estricta base cronológica.

La fase I comienza con la administración inicial de un nuevo candidato vacunal a humanos, una vez superada la fase preclínica de desarrollo, y aunque su principal objetivo es determinar la tolerabilidad local y sistémica del rango de dosis necesario para continuar los estudios clínicos, así como determinar la

naturaleza de las reacciones adversas que pueden esperarse, se recomienda obtener una información preliminar de la inmunogenicidad.

Los estudios de fase II tienen como objetivo primordial estudiar la inmunogenicidad, incluyendo la selección del mejor esquema de vacunación para obtener una adecuada inmunidad poblacional.

En los ensayos clínicos de fase III se determina la eficacia de la vacuna preventiva y se evalúa la incidencia de la enfermedad en el grupo experimental o en el control luego de un período de tiempo. Estos ensayos pueden utilizarse para valorar, entre otros, la relación dosis respuesta, explorar el uso del producto en extensas poblaciones, estados fisiológicos especiales e interacción con otras vacunas o medicamentos, que pueden incidir en el comportamiento de la inmunidad poblacional. La detección de los niveles de inmunorespuesta a la vacunación permite determinar la relación entre éstos y el grado de protección. Cuando se conoce el nivel protector de anticuerpos, un estudio seroepidemiológico puede ser suficiente para avalar la eficacia clínica.

#### **Características principales de las fases de ensayos clínicos.**

<b>Fases</b>	<b>Objetivos</b>	<b>Diseño de los estudios</b>
Fase I	Seguridad y reactogenicidad del candidato vacunal. Evaluación preliminar de la inmunogenicidad.	Aleatorizados, a ciegas y controlados en un número pequeño de voluntarios.
Fase II	Evaluación de la inmunogenicidad y reactogenicidad. Exploración preliminar de la eficacia.	Controlados, aleatorizados y a ciegas en un número mayor de voluntarios.
Fase III	Confirmación de la eficacia con lotes fabriles, la reactogenicidad e inmunogenicidad.	Controlados, aleatorizados y a ciegas. Número de voluntarios en dependencia de la incidencia de la enfermedad.
Fase IV	Vigilancia poscomercialización.	Condiciones no experimentales donde la vacuna sea aplicada.

La inmunoepidemiología está íntimamente relacionada con los controles que deben establecerse una vez aprobada una vacuna para su comercialización, lo que se ha dado en llamar estudios de pos-licenciamiento o pos-comercialización (fase IV), que se basan en el monitoreo sistemático del

comportamiento de la vacuna donde esta es aplicada, incluyendo la evaluación de la respuesta inmune inducida por la misma en estas condiciones. Se hace indispensable la ejecución de programas de vigilancia inmunoepidemiológica y farmacológica, que permitan evaluar la inmunogenicidad en las condiciones reales de aplicación, así como su eficacia y su seguridad, ya que las diferencias individuales pueden conllevar a respuestas inmunes inadecuadas y reacciones adversas no detectadas durante los ensayos clínicos precedentes, aún cuando hayan sido desarrollados sobre un número significativo de individuos.

La inmunoepidemiología nos aporta una información vital para la vacunología. No pueden desarrollarse vacunas sin definir el inmunógeno apropiado, la respuesta inmune necesaria acorde con la infectividad del microorganismo, y sin conocer el estado inmune de una población dada. Es necesaria para definir estrategias de vacunación, para su evaluación periódica, así como la detección de grupos susceptibles. Constituye, además, una herramienta de medición en los ensayos clínicos de vacunas.

## Capítulo 7

### **Estrategias de vacunación. La experiencia cubana**

En fecha tan temprana como 1804, el sabio cubano Tomás Romay introdujo la vacunación en Cuba, siendo él y su familia los primeros inmunizados. Sin embargo, la vacunación como sistema, orgánicamente planificada y estructurada dentro de la salud pública, aparece luego de 1959, a raíz de los cambios políticos, económicos y sociales que se suceden.

La vacunación es la acción de salud con mejor balance costo–beneficio y tiene un impacto positivo espectacular en la reducción de la morbilidad y mortalidad de las enfermedades infecciosas susceptibles de prevenir por este procedimiento, sobre todo en los primeros años de vida.

#### **Características del programa cubano de vacunación**

Este programa se asienta en las recomendaciones emanadas de la OMS, teniendo en cuenta el cuadro epidemiológico local. Sin embargo se distingue, entre otros, por los aspectos siguientes:

1. Se encuentra integrado a un sistema único de salud, dirigido a toda la sociedad sin exclusiones y se basa en acciones preventivas de salud.
2. Cuenta con un amplio apoyo gubernamental y social, imprescindible en las campañas masivas de vacunación.
3. Está apoyado en el desarrollo de la industria farmacéutica y biotecnológica nacional, donde se priorizan el empleo de las vacunas que se investigan y producen en estas instituciones.
4. Está respaldado por la fortaleza del sistema de vigilancia en salud, con estadísticas confiables, y con la existencia de una red de laboratorios en todos los niveles de salud y centros de referencia que permiten realizar los estudios inmunoepidemiológicos pertinentes.
5. Cuenta con personal médico y paramédico óptimamente entrenados, y posee cobertura del plan del médico de la familia a escala nacional.
6. Se realizan pesquisas sistemáticas para identificar y vacunar grupos susceptibles.
7. Inclusión ágil y oportuna de las vacunas necesarias en el Esquema Oficial de Vacunación de la República de Cuba.

8. Antepone los beneficios, por muy pequeños que aparentemente estos sean, sobre los costos.

### **Experiencia cubana en la inclusión de vacunas en su programa de vacunación**

A inicios de la década de 1960 comienzan las campañas masivas de vacunación con OPV, DTP, DT y toxoide tetánico. Desde fecha muy temprana se comienzan a obtener logros: en 1962 se erradica la poliomielitis y en 1972 el tétanos neonatal, como consecuencia de la política inmunitaria en las embarazadas.

#### **Tasas de incidencia x 100.000 hab. de tos ferina y tétanos. 1970–2006.**

<b>Años</b>	<b>Tos ferina</b>	<b>Tétanos</b>
1970	13,9	2,6
1971	4,2	2,0
1972	14,4	1,7
1973	23,8	1,2
1974	18,1	1,0
1975	3,5	0,7
1976	1,5	0,6
1977	10,2	0,6
1978	15,1	0,4
1979	1,5	0,3
1980	1,3	0,3
1981	3,9	0,2
1982	9,3	0,2
1983	2,8	0,2
1984	0,9	0,1
1985	1,9	0,1
1986	3,4	0,1
1987	1,0	0,1
1988	0,3	0,05
1989	0,7	0,1
1990	0,2	0,04
1991	-	0,01
1992	0,01	0,05
1993	0,1	0,02
1994	0,02	0,05
1995–2005	-	0–0,05
2006	-	0,03

Dr. Rolando Ochoa Azze

En 1986 comienza la vacunación con la triple viral: parotiditis, rubéola, sarampión (PRS), observándose la brusca disminución en la incidencia de estas enfermedades. La rubéola y la parotiditis desaparecen virtualmente a finales del decenio de 1990. Sin embargo, se detectaron algunos casos de rubéola durante el año 2004 y de parotiditis entre el 2004 y el 2006. El último caso de sarampión se detectó en 1993.

**Tasas de incidencia x 100.000 hab. de sarampión, rubéola y parotiditis. 1970–2006.**

<b>Años</b>	<b>Sarampión</b>	<b>Rubéola</b>	<b>Parotiditis</b>
1970	104,2	12,5	32,9
1971	130,1	5,0	101,1
1972	60,2	4,4	159,7
1973	78,5	273,8	129,1
1974	151,6	766,5	189,4
1975	113,4	31,6	220,7
1976	157,0	26,5	197,6
1977	263,9	25,6	259,3
1978	193,0	10,8	313,7
1979	76,7	11,5	257,7
1980	38,9	31,0	318,2
1981	189,5	335,3	332,6
1982	239,0	51,2	306,0
1983	33,5	42,7	465,9
1984	34,2	52,0	433,3
1985	28,6	102,3	341,5
1986	32,5	183,7	405,8
1987	8,3	12,0	51,3
1988	1,2	1,5	5,4
1989	0,1	1,8	0,6
1990	0,2	0,2	0,4
1991	0,2	0,2	0,2
1992	0,1	0,1	0,1
1993	0,02	0,02	0,05
1994	-	0,04	0,2
1995	-	0,03	0,1
1996 – 2003	-	-	-
2004	-	0,2	2,5
2005	-	-	3,1
2006	-	-	0,04

El síndrome de rubéola congénita había desaparecido ya en 1989, como consecuencia de la estrategia dirigida a vacunar contra la rubéola a todas las adolescentes y mujeres en edad fértil (1982-1986).

El último caso de difteria se registra en 1979 --analizada en el capítulo anterior--, el de tos ferina durante 1994, y aunque en los años 2004 y 2005 no se detectaron casos de tétanos, en el 2006 se reportaron tres individuos afectados por esta enfermedad.

Con relación a la enfermedad meningocócica, se habían descrito históricamente tan sólo casos esporádicos y pequeños brotes, hasta que en 1976 comienza una importante epidemia de magnitud sin precedentes en el país, a predominio del serogrupo C, que para 1980 alcanza una incidencia total de 5,7 x 100000 habitantes. Una vacunación masiva con una vacuna de polisacárido A/C, dirigida a los grupos de edad susceptibles, entre 3 meses de edad y 19 años, redujo sustancialmente los casos debidos a ese serogrupo, pero no pudo revertir esta situación, pues la incidencia continuó en ascenso, ahora a expensas del serogrupo B.

En 1983 y 1984, las tasas de incidencia general superaron los 14 x 100000 habitantes, pero en niños menores de 1 año se mantuvo sobre 90 x 100000 habitantes sostenidamente hasta 1988.

Ante la magnitud de la epidemia, se tomaron medidas encaminadas a fortalecer la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad: se incrementan los estudios de portadores y en 1982 se crea un grupo de investigación en el Instituto Finlay, que en tan sólo 5 años desarrolla la vacuna VA-MENGOC-BC<sup>®</sup>, primera contra el meningococo B, basada en vesículas de membrana externa de este serogrupo y que incluye el polisacárido capsular del serogrupo C. Esta se caracteriza por inducir una respuesta inmune clásica tipo Th1, con la producción de anticuerpos bactericidas y opsonizantes. En 1988 comienza a emplearse, y hasta 1990 se realiza una campaña masiva de inmunización en la población de alto riesgo entre los 3 meses y los 24 años de edad. En 1991 se incorpora al Programa Nacional de Inmunización con dos dosis durante el primer año de vida. La aplicación de esta vacuna provocó la erradicación de la epidemia y una disminución gradual de la incidencia, que alcanzó 0,5 x 100000 habitantes en el año 2000; a partir de esta fecha continúa decreciendo ininterrumpidamente, en el año 2006 se reportó una tasa de 0,2 x 100000 habitantes. Debe destacarse que las tasas de los últimos años son inferiores a las encontradas en el periodo preepidémico.

Dr. Rolando Ochoa Azze

Esta vacuna ha sido, además, usada exitosamente en el control de epidemias en Brasil, Colombia y Uruguay, incluyendo brotes causados por cepas del serogrupo B diferentes a las vacunales.

**Tasas de incidencia y mortalidad por 100.000 hab. de enfermedad meningocócica. 1980–2006.**

Años	Incidencia	Mortalidad
1980	5,7	1,2
1981	9,1	1,9
1982	12,8	2,0
1983	14,3	2,1
1984	14,0	2,2
1985	12,7	2,1
1986	10,9	1,9
1987	8,5	1,5
1988	7,6	1,6
1989	5,7	1,2
1990	4,2	1,1
1991	2,1	0,7
1992	1,3	0,4
1993	0,9	0,3
1994	0,7	0,2
1995	0,6	0,2
1996	0,7	0,2
1997	0,6	0,1
1998	0,5	0,1
1999	0,6	0,2
2000	0,5	0,1
2001	0,4	0,1
2002	0,3	0,04
2003	0,3	0,1
2004	0,3	0,1
2005	0,2	0,1
2006	0,2	0,04

Al evaluar la incidencia de las hepatitis virales, es interesante observar cómo al mejorar los sistemas diagnósticos se avanza en la clasificación etiológica. En 1992 se introdujo una vacuna cubana de antígeno de superficie recombinante del virus de la hepatitis B (Heberbiovac HB<sup>®</sup>), la primera

obtenida en nuestro país con técnicas de biología molecular (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología). El aumento de la cobertura de inmunización, junto con otras medidas de control, tales como la adecuada certificación de la sangre y sus derivados, ha permitido disminuir apreciablemente la incidencia de esta enfermedad. Sin embargo, las hepatitis producidas por el virus de la hepatitis A se mantienen elevadas, por lo que debe valorarse en un futuro la introducción de una vacuna para su prevención, junto con las medidas pertinentes de control ambiental.

**Tasas de incidencia x 100.000 hab. de hepatitis viral según tipo. 1990–2006.**

Años	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Sin especificar
1990	55,0	16,7	0,7	52,2
1991	185,7	19,1	0,5	119,3
1992	195,7	20,3	0,3	79,2
1993	111,2	17,5	0,1	20,6
1994	133,0	15,8	0,2	13,5
1995	137,9	13,3	0,5	9,5
1996	189,0	15,4	1,4	11,1
1997	203,8	12,2	1,5	6,0
1998	139,9	9,2	0,8	3,8
1999	152,6	6,5	0,5	3,1
2000	155,0	4,0	0,5	4,3
2001	125,3	2,2	0,2	4,6
2002	119,8	1,2	0,2	4,5
2003	73,2	0,9	0,2	2,7
2004	87,8	0,6	0,1	2,6
2005	201,9	0,4	0,1	4,5
2006	223,2	0,3	0,1	11,6

Otras vacunas empleadas en el programa cubano incluyen las dirigidas a la prevención de la fiebre tifoidea en grupos con riesgo de la enfermedad, a pesar de su baja incidencia, inferior a 0,2 en los últimos 5 años. Se utilizó durante mucho tiempo una vacuna de células enteras inactivadas, desechada después de algunos años de empleo debido a su insuficiente inmunogenicidad y elevada reactogenicidad. A partir del año 2002 se sustituyó por una vacuna de polisacárido Vi de *Salmonella* Typhi (vax-TyVi®) de excelente rendimiento, producida por el Instituto Finlay.

Dr. Rolando Ochoa Azze

En 1999 se incluyó la vacunación contra *Haemophilus influenzae* tipo b, y durante el 2003 se registra y comercializa la vacuna cubana (Quimi-Hib<sup>®</sup>), obtenida por síntesis química, la primera del mundo de este tipo contra ese microorganismo, ejemplo de cooperación entre instituciones científicas, en este caso entre la Universidad de La Habana, el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología y el Instituto Finlay. Este último centro produce la vacuna trivalente contra la leptospirosis (vax-SPIRAL<sup>®</sup>), también indicada específicamente a grupos de riesgo.

En los últimos años, la integrada industria farmacéutica y biotecnológica local trabaja en la combinación de inmunógenos vacunales; en el año 2005 se introdujo la tetravalente DTP-Hepatitis B (Trivac-HB<sup>®</sup>), como resultado de la colaboración entre el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología y el Instituto Finlay. A finales del 2006 comenzó la aplicación de Heberpenta<sup>®</sup>, vacuna nacional pentavalente con la adición de Hib.

Un resumen del total de dosis aplicadas según tipo de vacuna entre los años 1962 y 2006, puede observarse en la siguiente tabla. Téngase en cuenta que la población cubana ha oscilado aproximadamente entre los 7 y algo más de 11 millones de habitantes durante ese período, lo que denota la magnitud del esfuerzo desarrollado en este campo.

**Total de dosis aplicadas según tipo de vacuna. 1962–2006.**

Tipo de vacuna	Total de dosis
Toxoide tetánico (TT)	75 942 236
Antipoliomielítica (OPV)	75 244 312
Antitifoídica (AT)	36 245 357
Triple bacteriana (DTP)	31 292 378
Duple bacteriana (DT)	12 954 699
BCG	12 273 328
Antimeningocócica BC (AM-BC)	10 479 779
Hepatitis B (HB)	12 643 146
Triple viral (PRS)	5 550 500
<i>Haemophilus influenzae</i> (Hib)	4 163 952
Tetravalente (DTP+HB)	437 047
Pentavalente (DTP+HB+Hib)	90 226

Es importante destacar que no hemos podido evaluar con todo el rigor la situación epidemiológica antes de 1959, debido a las estadísticas no confiables durante ese período. Sin embargo, es evidente que el progreso espectacular de la medicina preventiva a partir de esta fecha, en la que la vacunación constituye un pilar fundamental: ha provocado la disminución marcada de la incidencia en muchas enfermedades inmunoprevenibles, así como la probable eliminación de muchas de ellas, supresión de formas clínicas severas y complicaciones graves.

**Enfermedades prevenibles eliminadas por vacunas.**

Enfermedades	Año
Poliomielitis	1962
Tétanos neonatal	1972
Difteria	1979
Síndrome rubéola congénita	1989
Meningoencefalitis posparotiditis	1989
Sarampión	1993
Tos ferina	1994
Meningoencefalitis tuberculosa	1997

Al evaluar el Esquema Oficial de Vacunación en la próxima tabla, es oportuno reflejar que, con excepción de las vacunas de gérmenes vivos atenuados (OPV, PRS, BCG), los restantes inmunógenos vacunales empleados son producidos en el país.

Durante el 2008 se sustituirá la reactivación con toxoide tetánico por la bivalente de toxoide tetánico y diftérico formulación para adultos.

Este esquema evolucionará además hacia su simplificación con la introducción de nuevas vacunas multivalentes; ya nos hemos referido a la pentavalente, y se desarrollan otros estudios para evaluar la posibilidad de incluir otros inmunógenos vacunales.

### Esquema Oficial de Vacunación de la República de Cuba. 2007.

Vacuna	Dosis aplicadas. Edad o grado escolar
BCG	Al nacer
HB (+)	12 – 24 horas 1er mes 2do mes 12mo mes
HB (-)	12 – 24 horas
DTP+HB+Hib (-)	2do mes 4to mes 6to mes
DTP	18vo mes
Hib	18vo mes
AM-BC	3er mes 5to mes
PRS	12mo mes Primer grado escolar (6 años)
DT	Primer grado escolar (6 años)
AT	Quinto grado escolar (9 – 10 años) Octavo grado escolar (12 – 13 años) Onceño grado escolar (15 – 16 años)
TT	Noveno grado escolar (13 – 14 años). Luego refuerzos cada 10 años hasta los 60 años y a partir de aquí cada 5 años.

La vacuna OPV se aplica por campañas.

(+) Hijos de madres positivas al HBsAg. El resto de las vacunas que constituyen la Pentavalente (DTP y Hib) las reciben de forma independiente.

(-) Hijos de madres negativas al HBsAg.

Puedo concluir que para una estrategia de vacunación adecuada se requiere contar con un sistema de vigilancia epidemiológica capaz de brindar con la mayor precisión la morbilidad y mortalidad de una enfermedad dada, así como detectar poblaciones susceptibles; en este contexto, la inmunoepidemiología está estrechamente vinculada con su desarrollo. Sin inmunoepidemiología no puede concebirse la vacunología moderna.

## Bibliografía

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Activación de la célula B y producción de anticuerpos. Capítulo 9. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p.212-33.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Anatomía funcional de las respuestas inmunitarias. Capítulo 11. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p.254-71.
3. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Células y tejidos del sistema inmunitario. Capítulo 2. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p.16-35.
4. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Citoquinas. Capítulo 12. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p.275-308.
5. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. El Sistema del Complemento. Capítulo 15. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p. 348-76.
6. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Inmunidad frente a los microorganismos. Capítulo 16. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p. 379-402.
7. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Mecanismos efectores de las reacciones inmunitarias mediadas por las células T. Capítulo 13. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p.309-29.
8. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Procesamiento y presentación del antígeno a los linfocitos T. Capítulo 6. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p. 124-48.
9. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Propiedades generales de la respuesta inmunitaria. Capítulo 1. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p. 3-15.
10. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, editores. Reconocimiento y activación del linfocito T por el antígeno. Capítulo 7. En: *Inmunología Celular y Molecular*. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2000. p. 149-85.
11. Abraham SN, Sharon N, Ofek I. Adhesion of bacteria to mucosal surfaces. En: Ogra P, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, editors. *Mucosal Immunology*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press; 1999. p.31-42.
12. Academia de Ciencias de Cuba. *Ley No 33/81: Protección del medio ambiente y uso racional de los recursos naturales*. La Habana: Editorial Academia; 1982.

Dr. Rolando Ochoa Azze

13. Acanda ME, Leiva T, Bolaños G, Quintero R, Sotolongo F, Martínez I, et al. Adherencia de *Neisseria meningitidis* a células epiteliales. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 1997;17:149-52.
14. Aggerbeck H, Norgaard-Pedersen B, Heron I. Simultaneous quantitation of diphtheria and tetanus antibodies by double antigen, time-resolved fluorescence immunoassay. *Journal of Immunological Methods* 1996;190:171-83.
15. Ahmed R, Biron Ch. Chapter 39: Immunity to viruses. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.
16. Ala'Aldeen DNA. Vaccine against *Neisseria meningitidis*: Past, present and future. *Biotechnología Aplicada* 1996;13:1-7.
17. Alp H, altinkaynak S, Ertekin V, Kilicaslan B Giiraksin A. Seroepidemiology of varicella-zoster virus infection in a cosmopolitan city (Erzurum) in the eastern Turkey. *Health Policy* 2005;72:119-24.
18. Amalia M, Anwar N, Leiva T, Arnet A, Sotolongo F, Ison C. Resultados preliminares de la evaluación de diferentes concentraciones de la suspensión bacteriana empleada como inóculo en el Ensayo Bactericida de Sangre Total. *VacciMonitor* 2000;9(2):14-8.
19. Andersen J, Berthelsen L, Lind I. Measurement of antibodies against meningococcal capsular polysaccharide B and C in enzyme-linked immunosorbent assay towards an improved surveillance of meningococcal disease. *Clin Diag Lab Immunol* 1997;4:345-51.
20. Ann NQ, Hong HA, Nhon TN, Think ND, Van NT, Hendriks J. Tetanus antibodies measured by the toxin binding inhibition test (ToBI) in mothers and children in the Neonatal Tetanus Program in Vietnam. *Dev Biol Stand* 1999;101:247-53.
21. Aucan C, Traore Y, Fumoux F, Rihet P. Familial correlation of immunoglobulin G subclass responses to *Plasmodium falciparum* antigens in Burkina Faso. *Infect Immun* 2001;69:996-1001.
22. Battikhi MN, Battikhi EG. The seroepidemiology of Hepatitis A virus in Amman, Jordan. *New Microbiol* 2004;27:215-20.
23. Bercovier H. Viejos y nuevos enfoques para el desarrollo de vacunas contra la tuberculosis. *VacciMonitor* 2000;9(1):1-4.
24. Beyazova U, Guler E, Yucel A, Sahin F. Diphtheria immunity of different age groups in Turkey. *Jpn J Infect Dis* 2002;55:52-4.
25. Bjorkholm B, Granstrom M, Taranger J, Wahl M, Hagberg L. Influence of high titers of maternal antibody on the serologic response of infants to diphtheria vaccination at three, five and twelve months of age. *Pediatr Infect Dis J* 1995;14:846-50.

26. Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:187-95.
27. Bloch P, Simonsen PE. Immunoepidemiology of *Dracunculus medinensis* infections II. Variation in antibody responses in relation to transmission season and patency. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:985-90.
28. Bonin E, Tiru M, Hallander H, Bredberg-Raden U. Evaluation of single- and dual antigen delayed fluorescence immunoassay in comparison to an ELISA and the in vivo toxin neutralisation test for detection of diphtheria toxin antibodies. *J Immunol Methods* 1999; 230:131-40.
29. Borovio MV. Diagnóstico serológico de las enfermedades infecciosas. En: Garau J, Perea E, Regueiro BJ, editores. *Introducción al conocimiento de la enfermedad infecciosa*. 1ª ed. Madrid: Editorial Médica Internacional SA; 1990. p.113-32.
30. Borrow R, Fox AJ, Cartwright K, Begg NT, Jones DM. Salivary antibodies following parenteral immunization of infants with a meningococcal serogroup A and C conjugates vaccine. *Epidemiol Infect* 1999;123:201-8.
31. Borrow R, Richmond P, Kaczmarek EB, Iverson A, Martin SL, Findlow J, et al. Meningococcal serogroup C-specific IgG antibody responses and serum bactericidal titres in children following vaccination with a meningococcal A/C polysaccharide vaccine. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2000;28:79-85.
32. Bundy DA, Grenfell BT, Rajagopalan PK. Immunoepidemiology of lymphatic filariasis: the relationship between infection and disease. *Parasitol Today* 1991;7:71-5.
33. Bundy DA. Immunoepidemiology of intestinal helminthic infections. 1. The global burden of intestinal nematode disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994;88:259-61.
34. Calvo S. *Educación ambiental. Conceptos y propuestas*. Madrid: Editorial CCS; 1994.
35. Campagne G, Garka A, Fabre P, Schuchat A, Riall R, Boulanger D, et al. Safety and immunogenicity of three doses of a *Neisseria meningitidis* A+C diphtheria conjugate vaccine in infants from Niger. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:144-50.
36. Cardoso MJ. Dengue vaccine design: issues and challenges. *British Medical Bulletin* 1998;54:395-405.
37. Catt K, Tregear GW. Solid-phase radioimmunoassay in antibody coated tubes. *Science* 1967;158:1570-2.
38. Chen RT, Hardy IRB, Rhodes PH, Tyshchenko DK, Moiseeva AV, Marievsky VF. Ukraine, 1992: First assessment of Diphtheria vaccine effectiveness during

Dr. Rolando Ochoa Azze

- the recent resurgence of Diphtheria in the former Soviet Union. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 1:178-83.
39. De Melker HE, van der Hof S, Berbers GA, Conyn-van Spaendonck MA. Evaluation of the national immunisation programme in the Netherlands: immunity to diphtheria, tetanus, poliomyelitis, measles, mumps, rubella and *Haemophilus influenzae* type b. *Vaccine* 2003;21:716-20.
  40. De Melker HE, van der Hof S, Berbers GA, Nagelberke NJ, Rumke HC, Conyn-van Spaendonck MA. A population-based study on tetanus antitoxin levels in the Netherlands. *Vaccine* 1999;18:100-8.
  41. Dokmetjian J, Della Valle C, Lavigne V, De Lujan CM, Manghi MA. A possible explanation for the discrepancy between ELISA and neutralizing antibodies to tetanus toxin. *Vaccine* 2000;18:2698-703.
  42. Durbaca S. Anti tetanus and anti diphtheria immunity in newborns. *Roum Arch Microbiol Immunol* 1999;58:267-72.
  43. Ellis RW. Immunological correlates for efficacy of combination vaccines. En: Ellis RW, editor. *Combination vaccines: Development, clinical research, and approval*. Totowa (NJ): Humana Press Inc; 1999. p.107-31.
  44. Engvall E and Perlman P. Enzyme-linked immunosorbent assay III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labelled anti-immunoglobulin in antigen coated tubes. *J Immunol* 1972;109:129-35.
  45. Fainboim L, Satz ML, editores. Células involucradas en la inmunidad específica. Capítulo 3. En: *Introducción a la Inmunología humana*. 3ª ed. Buenos Aires: Gráfica Patricia; 1995. p.19-46.
  46. Fainboim L, Satz ML, editores. Conceptos generales de inmunidad. Capítulo 1. En: *Introducción a la Inmunología humana*. 3ª ed. Buenos Aires: Gráfica Patricia; 1995. p.1-14.
  47. Fainboim L, Satz ML, editores. Inmunidad frente a agentes microbianos. Capítulo 13. En: *Introducción a la Inmunología humana*. 3ª ed. Buenos Aires: Gráfica Patricia; 1995. p.233-48.
  48. Fan CK, Hung CC, Du WY, Liao CW, Su KE. Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal schoolchildren living in contaminated districts in eastern Taiwan. *Trop Med Int Health* 2004; 9:1312-8.
  49. Fariñas AT. *La Vigilancia en Salud Pública. Folleto para estudios docentes de postgrado de las Ciencias de la Salud Pública*. Ciudad de La Habana: Facultad de Salud Pública; 1995.
  50. Fedson DS. Pneumococcal vaccination for older adults. *Drugs & Aging* 1999;15 Suppl 1:21-30.

51. Fernández JA, Malberty JA, Sotolongo F, Bacallao J, Camaraza MA, Nerey MC, et al. Cinética de la respuesta de anticuerpos bactericidas y de la IgG específica en individuos vacunados con VA-MENGOC-BC®. *Rev Cubana Hematol Immunol Hemoter* 1997;13(1):38-45.
52. Frasch CE. Meningococcal vaccines: Past, present and future. En: Cartwright K, editor. *Meningococcal Disease*. Gloucester: John Wiley & Sons; 1995. p.246-83.
53. Gabriela SM. El medio ambiente. URL: <http://www.monografias.com/trabajos11/ambi/ambi.shtml>.
54. Galazka AM, Robertson SE. Immunization against diphtheria with special emphasis on immunization of adults. *Vaccine* 1996;14:845-57.
55. Galazka AM. *The Immunological Basis for Immunization Series. Module 3. Tetanus*. Geneva: World Health Organization; 1996.
56. Galazka AM. *The Immunological Basis for Immunization Series. Module 2. Diphtheria*. Geneva: World Health Organization; 1996.
57. Galen JE, Gómez G, Losonsky GA, Halpern JL, Lauderbaugh CS, Kaintuck S, et al. A murine model of intranasal immunization to assess the immunogenicity of attenuated *Salmonella typhi* live vector vaccines in stimulating serum antibody responses to expressed foreign antigens. *Vaccine* 1997;15:700-8.
58. Gheesling LL, Carlone GM, Pais LB, Holder PF, Maslanka SE, Plykaytis BD, et al. Multicenter comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup C anti-capsular polysaccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1994;32:1475-82.
59. Grabar P. Antecedentes históricos de la Inmunología. Capítulo 1. En: Stites DP, Stobo JD, Fudenberg HH, Wells JV, editores. *Inmunología Básica y Clínica*. 5ª ed. La Habana: Edición Revolucionaria; 1986. p.1-12.
60. Greenwood B. Maternal immunisation in developing countries. *Vaccine* 2003;21:3436-41.
61. Griffiss JM, Bertram MA. Immunoepidemiology of meningococcal disease in military recruits. II. Blocking of serum bactericidal activity by circulating IgA early in the course of invasive disease. *J Infect Dis* 1977;136:733-9.
62. Griffiss JM, Broud DD, Silver CA, Artenstein MS. Immunoepidemiology of meningococcal disease in military recruits. I. A model for serogroup independency of epidemic potential as determined by serotyping. *J Infect Dis* 1977;136:176-86.
63. Gupta S, Day KP. A theoretical framework for the immunoepidemiology of *Plasmodium falciparum* malaria. *Parasite Immunol* 1994;16:361-70.

64. Guttormsen HK, Kasper DL. Bacterial Vaccines. En: Austen KF, Burakoff SJ, Rosen FS, Strom TB, editors. *Therapeutic Immunology*. 2<sup>nd</sup> ed. Massachusetts: Blackwell Science Inc; 2001. p. 401-12.
65. Harlow E, Lane D, editors. Immunoassays. En: *Antibodies. A laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory; 1998. p. 553-612.
66. Hasselhorn HM, Nubling M, Tiller W, Hoffman F. Factors influencing immunity against diphtheria in adults. *Vaccine* 1998;16:70-5.
67. Hellriegel B. Immunoepidemiology - bridging the gap between immunology and epidemiology. *Trends Parasitol* 2001;17:102-6.
68. Heyderman RS, Klein NJ, Daramola, OA, Hammerschmidt S, Frosch M, Robertson BD, et al. Induction of human endothelial tissue factor expression by *Neisseria meningitidis*: the influence of bacterial killing and adherence to the endothelium. *Microbial Pathogenesis* 1997;22:265-74.
69. Himmelrich H, Launois P, Tacchini F, Louis J. Some of the early events underlying Th2 cell maturation and susceptibility to *Leishmania major* infection in BALB/c mice. *Biol Chem* 1999;380:909-14.
70. Ison CA, Anwar N, Cole MJ, Galassini R, Heyderman RS, Klein NJ, et al. Assessment of immune response to meningococcal disease: comparison of a whole-blood assay and the serum bactericidal assay. *Microb Pathog* 1999; 7:207-14.
71. Ison CA, Heyderman RS, Klein NJ, Peakman M, Levin M. Whole blood model of meningococcal bacteraemia – a method for exploring host-bacterial interactions. *Microb Pathog* 1995;18:97-107.
72. Iturriza-Gomara M, Clarke L, Desselberger U, Brown D, Thomas D, Gray J. Seroepidemiology of group C rotavirus infection in England and Wales. *Eur J Epidemiol* 2004;19:589-95.
73. Jackson LA, Falls S, Yu O, George J, Pietrobon PJ, Rubanowice D, et al. Diphtheria antitoxin levels among children primed with a diphtheria and tetanus toxoids and acellular pertussis vaccine lot with a subpotent diphtheria toxoid component. *J Infect Dis* 2001;183:1698-700.
74. Jagannath C, Sengupta DN. Serology of leprosy. I. Indirect hemagglutination test with stabilised sensitized red cells. *Lepr India* 1981;53:507-12.
75. Jang WJ, Choi YJ, Kim JH, Jung KD, Ryu JS, Lee SH, et al. Seroepidemiology of spotted Fever group and typhus group rickettsioses in humans, South Korea. *Microbiol Immunol* 2005;49:17-24.
76. Johannsson A, Stanley CJ, Self CH. A fast highly sensitive colorimetric enzyme immunoassay system demonstrating benefits of enzyme amplification in clinical chemistry. *Clin Chim Acta* 1985;148:119-24.

77. Kaufmann S. Chapter 40: Immunity to intracellular bacteria. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.
78. Khetsuriani N, Music S, Deforest A, Sutter RW. Evaluation of a single dose of Diphtheria Toxoid among adult in the Republic of Georgia, 1995: Immunogenicity and adverse reactions. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 1:208-12.
79. Kimble J, Capra D. Chapter 3: Immunoglobulins: structure and function. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.
80. Klein M. AIDS and HIV vaccines. *Vaccine* 1999;17(2 Suppl):S65-70.
81. Lagos R, Levine OS, Avendaño A, Horwitz I, Levine M. The introduction of routine *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine in Chile: a framework for evaluating new vaccines in newly industrializing countries. *Pediatr Infect Dis J* 1998;17 (9 Suppl 9):139-48.
82. Lahita RG. Efectos de las hormonas sexuales, la nutrición y la edad sobre la respuesta inmunitaria. Capítulo 18. En: Stites DP, Stobo JD, Fudenberg HH, Wells JV, editores. *Inmunología Básica y Clínica*. 5<sup>a</sup> ed. La Habana: Edición Revolucionaria; 1986. p.291-315.
83. Lanzavecchia A, Sallusto F. From synapses to immunological memory: The role of sustained T cell stimulation. *Curr Opin Immunol* 2000;12:92-8.
84. Lemman Y, Chodiek G, Tepper S, Livni G, Ashkenazi S. Seroepidemiology of varicella-zoster virus antibodies among health-care workers and day-care-centre workers. *Epidemiol Infect* 2004;132:1135-8.
85. Leung J, Esper F, Weibel C, Kahn JS. Seroepidemiology of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzyme-linked immunosorbent assay utilizing hMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatitis virus. *J Clin Microbiol* 2005;43:1213-9.
86. Lieu TA, Ray G, Black SB, Butler JC, Klein JO, Breiman RF, et al. Projected cost-effectiveness of pneumococcal conjugate vaccination of healthy infants and young children. *JAMA* 2000;283:1460-8.
87. Lin DB, Lin JB, Chen SC, Yang CC, Chen WK, Chen CJ. Seroepidemiology of hepatitis E virus infection among preschool children in Taiwan. *J Med Virol* 2004;74:414-8.
88. MacDonald TT, Spencer J, Murch SH, Choy MY, Venugopal S, Bundy DA, et al. Immunoepidemiology of intestinal helminthic infections. 3. Mucosal macrophages and cytokine production in the colon of children with *Trichuris trichiura* dysentery. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88:265-8.

Dr. Rolando Ochoa Azze

89. Malek A. Ex vivo human placenta models: transport of immunoglobulin G and its subclasses. *Vaccine* 2003;21:3362-4.
90. Manuel O, Valdés O. Los problemas del medio ambiente. El desarrollo sostenible y la educación ambiental: desafíos y retos para la humanidad en el tercer milenio. URL: <http://www.monografias.com/trabajos11/problamb/problamb.shtml>.
91. Maple PA, Jones CS, Wall EC, Vyseb A, Edmunds WJ, Andrews NJ, et al. Immunity to diphtheria and tetanus in England and Wales. *Vaccine* 2000; 19:167-73.
92. Martin SL, Borrow R, van der Ley P, Dawson M, Fox AJ, Cartwright KAV. Effect of sequence variation in meningococcal PorA outer membrane protein on the effectiveness of a hexavalent PorA outer membrane vesicle vaccine. *Vaccine* 2000;18:2476-81.
93. Martínez Rodríguez JC, Ochoa Azze R, Cruces Perón A, Fajardo EM, Alvarez Figueredo E, Ferriol Marchena X, et al. Validation of an ELISA for the quantitation of diphtheria antitoxin in human serum. *Biotecnología Aplicada* 2000;17(3):183-6.
94. Maslanka SE, Gheesling LL, Libutti DE, Donaldson KB, Harakeh HS, Dykes JK, et al. Standardization and a multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bactericidal assays. The Multilaboratory Study Group. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997;4:156-67.
95. Maslanka SE, Tappero JW, Plikaytis BD, Brumberg RS, Dykes JK, Gheesling LL, et al. Age-dependent *Neisseria meningitidis* serogroup C class-specific antibody concentrations and bactericidal titers in sera from young children from Montana immunized with a licensed polysaccharide vaccine. *Infect Immun* 1998;66:2453-9.
96. Mc Ghee J, Kiyono H. Chapter 27: The mucosal immune system. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.
97. Mc Heyzer-Williams MG, Ahmed R. B cell memory and the long-lived plasma cell. *Curr Opin Immunol* 1999;11:172-9.
98. McGhee JR, Czerkinsky C, Mestecky J. Mucosal vaccines: an overview. En: Ogra P, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, Bienenstock J, McGhee JR, editors. *Mucosal Immunology*. 2<sup>nd</sup> ed. London: Academic Press; 1999. p.741-58.
99. Michael E, Simonsen PE, Malecela M, Jaoko WG, Pedersen EM, Mukoko D, et al. Transmission intensity and the immunoepidemiology of *bancroftian* filariasis in East Africa. *Parasite Immunol* 2001;23:373-88.

100. Milagres LG, Lemos APS, Meles CEA, Silva EL, Ferrerira LH, Souza JA, et al. Antibody response after immunization of Brazilian children with serogroup C meningococcal polysaccharide noncovalently complexed with outer membrane proteins. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 1995;28:981-9.
101. Miller E, Ashworth LA, Redhead K, Thornton C, Waight PA, Coleman T. Effect of schedule on reactogenicity and antibody persistence of acellular and whole-cell pertussis vaccines: value of laboratory tests as predictors of clinical performance. *Vaccine* 1997;15:51-60.
102. Miller MA, Mc Cann L. Policy analysis of the use of hepatitis B, *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus pneumoniae*-conjugate and rotavirus vaccines in national immunization schedules. *Health Economics* 2000;9:19-35.
103. Ministerio de Salud Pública de Cuba. *Anuario Estadístico de Salud 2002*. Ciudad de La Habana: MINSAP; 2002.
104. Ministerio de Salud Pública de Cuba. *Anuario Estadístico de Salud 2003*. Ciudad de La Habana: MINSAP; 2003.
105. Ministerio de Salud Pública de Cuba. *Anuario Estadístico de Salud 2004*. Ciudad de La Habana: MINSAP; 2004.
106. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Dirección Nacional de Estadísticas. *Temas de Estadística de Salud*. Ciudad de La Habana: MINSAP; 2002.
107. Nahm M, Apicella M, Briles D. Chapter 41: Immunity to extracellular bacteria. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.
108. National Institutes of Health (US). *The Jordan Report 2000. Accelerated Development of Vaccines*. Bethesda: The National Institutes of Health; 2000.
109. Needham CS, Lillywhite JE. Immunoepidemiology of intestinal helminthic infections. 2. Immunological correlates with patterns of Trichuris infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88:262-4.
110. Nossal GJ. Chapter 42: Vaccines. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.
111. Ochoa R, Leiva T. Mecanismos de defensa frente a las infecciones bacterianas. Capítulo 17. En: Llop A, Valdés-Dapena MM, Zuazo JL, editores. *Microbiología y Parasitología Médicas*. Tomo I. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 147-52.
112. Ochoa R, Martínez JC, Fajardo EM, Alvarez E, Estrada E, García AM, et al. Validación de un ELISA para la cuantificación de antitoxina tetánica en suero humano. *VacciMonitor* 2000;9(4):16-21.

Dr. Rolando Ochoa Azze

113. Ochoa R, Martínez JC, Ginebra M, Ferriol X, Rodríguez V, Sotolongo F. Immunogenicity of a new *Salmonella* Typhi Vi polysaccharide vaccine –vax-TyVi®– in Cuban school children and teenagers. *Vaccine* 2003;21:2758-60.
114. Ochoa R. *Bases metodológicas para la evaluación de anticuerpos en ensayos clínicos de vacunas*. Ciudad de la Habana: Finlay Ediciones; 2004.
115. Ochoa R. Sistemas ELISA en ensayos clínicos de vacunas y estudios seroepidemiológicos. Tesis para optar por el Grado de Doctor en Ciencias Médicas. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana; 2002.
116. Oellerich M. Enzyme immunoassay: A review. *J Clin Chem Clin Biochem* 1984;22:895-904.
117. Panchanatan V, Kumar S, Yeap W, et al. Comparison of safety and immunogenicity of a Vi polysaccharide typhoid vaccine with a whole-cell-killed vaccine in Malaysian Air Forces recruits. *Bull World Health Organ* 2001;79: 811-17.
118. Pebody RG, Gay NJ, Giammanco A, Baron S, Schellekens J, Tischer A, et al. The seroepidemiology of *Bordetella pertussis* infection in Western Europe. *Epidemiol Infect* 2005;133:159-71.
119. Pichichero ME, Latiolais T, Bernstein DI, Hosbach P, Christian E, Vidor E, et al. Vaccine antigen interactions after a combination diphtheria-tetanus toxoid acellular pertussis / purified capsular polysaccharide of *Haemophilus influenzae* type b tetanus toxoid vaccine in two, four and six month old infants. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:863-70.
120. Plotkin SA. Vaccination against the major infectious diseases. *C R Acad Sci III* 1999;322:943-51.
121. Plotkin SA. Vacunas en el siglo veintiuno. *Vacunas* 2002;3:18-28.
122. Porstmann B, Porstmann T, Nugel E. Comparison of chromogens for the determination of horseradish peroxidase as a marker in enzyme immunoassay. *J Clin Chem Clin Biochem* 1981;19:435-9.
123. Proudman CJ, Holmes MA, Sheoran AS, Edwards SE, Trees AJ. Immunoepidemiology of the equine tapeworm *Anoplocephala perfoliata*: age-intensity profile and age-dependency of antibody subtype responses. *Parasitology* 1997;114:89-94.
124. Quinnell RJ, Woolhouse ME, Walsh EA, Pritchard DI. Immunoepidemiology of human necatoriasis: correlations between antibody responses and parasite burdens. *Parasite Immunol* 1995;17:313-8.
125. Rico O, Jiménez R, Pereira C. Enfermedad meningocócica y VA-MENGOC-BC® en menores de 1 año. Cuba, 1983 a 1991. *Rev Cubana Med Trop* 1996;48(1):34-9.

126. Roberts MG. The immunoepidemiology of nematode parasites of farmed animals: a mathematical approach. *Parasitol Today* 1999;15:246-51.
127. Ronne T, Valentells R, Tarum S, Griskevica A, Wachmann CH, Aggerbeck H, et al. Immune response to diphtheria booster vaccine in the Baltic states. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 1:213-9.
128. Saab S, Lee C, Shpaner A, Ibrahim AB. Seroepidemiology of hepatitis A in patients with chronic liver disease. *J Viral Hepat* 2005;12:101-5.
129. Salgado H. *Generalidades en inmunización*. Bogotá: Biotoscana; 1998.
130. Salleras L. Tecnologías de producción de vacunas I: vacunas vivas atenuadas. *Vacunas* 2002;3:29-33.
131. Salleras L. Tecnologías de producción de vacunas II: vacunas inactivadas. *Vacunas* 2002;3:78-84.
132. Salleras L. Tecnologías de producción de vacunas III: vacunas génicas. *Vacunas* 2002;3:145-49.
133. Sallusto F, Lenig D, Foster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999;401:708-12.
134. Samudio M, Montenegro-James S, de Cabral M, Martinez J, Rojas de Arias A, Woroniecky O, et al. Differential expression of systemic cytokine profiles in Chagas' disease is associated with endemicity of *Trypanosoma cruzi* infections. *Acta Trop* 1998;69:89-97.
135. Schafer K, Muller M, Faath S, Henn A, Osen W, Zentgraf H, et al. Immune response to human papillomavirus 16 L1E 7 chimeric virus-like particles: induction of cytotoxic T cells and specific tumor protection. *Int J Cancer* 1999;81:881-8.
136. Schuurs AH, van Weemen BK. Enzyme-immunoassay: a powerful analytical tool. *J Immunoassay* 1980;1:229-49.
137. Sedlik C, Dridi A, Deriaud E, Saron MF, Rueda P, Sarraseca J, et al. Intranasal delivery of recombinant parvovirus-like particles elicits cytotoxic T-cell and neutralizing antibody responses. *J Virology* 1999;73:2739-44.
138. Siegrist CA. Vaccination in the neonatal period and early infancy. *Intern Rev Immunol* 2000;19:195-219.
139. Sierra GV, Campa HC, Varcacel NM, García IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF, et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis* protection trial and mass vaccination results in Cuba. *NIPH Annals* 1991;14:195-207.
140. Silverstein A. Chapter 2: The history of Immunology. En: Lippincott Williams and Wilkins, editors. *Fundamental Immunology* [monograph on CD-ROM]. 4<sup>th</sup> ed. Version 2.15 [07-15-98]. USA: BiblioMed textbook software; 1998.

Dr. Rolando Ochoa Azze

141. Simister NE, Story CM. Human placental Fc receptors and the transmission of antibodies from mother to fetus. *J Reprod Immunol* 1997;37:1-23.
142. Skoura L, Efstratiou A, Tsakris A, Pournaras S, George RC, Douboyas J. Study on the use of an enzyme-linked immunosorbent assay in determining human antibodies to diphtheria toxin as compared with a reference toxin neutralization assay. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1999;22:181-6.
143. Souliou E, Kyriazopoulou V, Diza E, Hatzistylianou M, Frantzydou F. Serological survey on the immunity to diphtheria of the northern Greek population. *Eur J Epidemiol* 1997;13:535-9.
144. Sutter RW, Hardy IR, Kozlova IA, Tchoudnaia LM, Gluskevich TG, Marievsky V, et al. Immunogenicity of Tetanus-Diphtheria Toxoids (Td) among Ukrainian adults: Implications for Diphtheria control in the newly independent states of the former Soviet Union. *J Infect Dis* 2000;181 Suppl 1:197-202.
145. Svarch NN. Fundamentos de la ecología. Capítulo 12. En: Llop A, Valdés-Dapena MM, Zuazo JL, editores. *Microbiología y Parasitología Médicas*. Tomo I. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 103-5.
146. Takahashi M, Komiya T, Fukuda T, Nagaoka Y, Ishii R, Goshima F, et al. A comparison of young and aged populations for the diphtheria and tetanus antitoxin titers in Japan. *Jpn J Med Sci Biol* 1997;50:87-95.
147. Tappero J, Lagos R, Maldonado A, Plikaytis B, Williams D, Dykes J, et al. Immunogenicity of 2 serogroup B Outer Membrane Protein Meningococcal Vaccines. *JAMA* 1999;281:1520-7.
148. Taylor GP, Bodeus M, Courtois F, Pauli G, Del Mistro A, Machuca A, et al. The seroepidemiology of human T-lymphotropic viruses: types I and II in Europe: a prospective study of pregnant women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38:104-9.
149. Thompson DL, Douglas JM, Foster M, Hagensee ME, Diguseppi C, Baron AE, et al. Seroepidemiology of infection with human *papillomavirus* 16, in men and women attending sexually transmitted disease clinics in the United States. *J Infect Dis* 2004;190:1563-74.
150. Thomson GT, Chiu B, De Rubeis D, Falk J, Inman RD. Immunoepidemiology of post-*Salmonella* reactive arthritis in a cohort of women. *Clin Immunol Immunopathol* 1992;64:227-32.
151. Tijssen P. Kinetics and nature of antibody-antigen interactions. En: Burdon RH, van Knippenberg PH, editors. *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Practice and theory of enzyme immunoassays*, Amsterdam, London, New York, Tokyo: Elsevier; 1993. p.123-49.

152. Ting SH, Tan HC, Wong WK, Ng ML, Chan SH, Ooi EE. Seroepidemiology of neutralizing antibodies to Japanese encephalitis virus in Singapore: continued transmission despite abolishment of pig farming? *Acta Trop* 2004;92:187-91.
153. Tiru M, Hallander HO, Gustafsson L, Storsaeter J, Olin P. Diphtheria antitoxin response to DTP vaccines used in Swedish pertussis vaccine trials, persistence and projection for timing of booster. *Vaccine* 2000;18:2295-306.
154. Vandelaer J, Birmingham M, Gasse F, Kurian M, Shaw C, Garnier S. Tetanus in developing countries: an update on the maternal and neonatal tetanus elimination initiative. *Vaccine* 2003;21:3442-5.
155. Voller A, Bidwell DE, Bartlett A. *The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Nuffield Laboratories of comparative medicine.* Dynatech Europe, Borough House, Guernsey, UK: ed London; 1979.
156. Westerink MAJ, Metzger DW, Hutchins WA, Adkins AR, Holder PF, Pais LB, et al. Primary human immune response to *Neisseria meningitidis* serogroup C in interleukin-12-treated severe combined immunodeficient mice engrafted with human peripheral blood lymphocytes. *J Infect Dis* 1997;175:84-90.
157. Wick G, Grubeck-Loebenstein B. Primary and secondary alterations of immune reactivity in the elderly: impact of dietary factors and disease. *Immunol Rev* 1997;160:171-84.
158. Wick G, Jansen-Durr P, Berger P, Blasko I, Grubeck-Loebenstein B. Diseases of aging. *Vaccine* 2000;18:1567-83.
159. Woolhouse ME. A theoretical framework for the immunoepidemiology of blocking antibodies to helminth infection. *Parasite Immunol* 1994;16:415-24.
160. Woolhouse ME. A theoretical framework for the immunoepidemiology of helminth infection. *Parasite Immunol* 1992;14:563-78.
161. Woolhouse ME. Immunoepidemiology of human schistosomes: Taking the theory into the field. *Parasitol Today* 1994;10:196-202.
162. World Health Organization. *Field manual for neonatal tetanus elimination.* Geneva: The World Health Organization; 1999.
163. World Health Organization. *Guidelines on clinical evaluation of vaccines. Regulatory expectations.* Geneva: The World Health Organization; 2002.
164. World Health Organization. *State of the world's vaccines and immunization.* Geneva: The World Health Organization; 1997.
165. Yang HH, Wu CG, Xie GZ, et al. Efficacy trial of Vi polysaccharide vaccine against typhoid fever in south western China. *Bulletin of the World Health Organization* 2001;79:625-31.
166. Zhang LH, Leggatt GR, McManus DP. Further characterization of the 38 kDa antigen from *Echinococcus granulosus* (hydatid disease) cyst fluid: evidence for antigenic heterogeneity and reactivity with anti-P1 antibodies. *Parasite Immunol* 1995;17:287-96.