

Impacto del neumococo y de los virus influenza en niños y adultos: su prevención con vacunas

María Hortal^{1*}

Palabras clave

Streptococcus pneumoniae, virus influenza, vacunas, prevención, infecciones respiratorias.

Title

Vaccine prevention for pneumococci and influenza virus infections in children and adults.

Key Words

Streptococcus pneumoniae, influenza virus, vaccines, prevention, respiratory infections.

Tabla de contenidos

- Introducción
- *Streptococcus pneumoniae*
 - Su historia
 - Estructuras bacterianas y sus funciones
 - Resistencia a los antibióticos
 - Epidemiología
 - General
 - Carga de enfermedad en Uruguay
 - Vacunas neumocócicas
 - Vacuna polisacarádica 23-valente
 - Vacunas conjugadas neumocócicas
 - Vacunas disponibles
 - Impacto de la vacunación
 - Vacunas en desarrollo
- Virus Influenza
 - Su historia
 - Estructuras y funciones
 - Epidemiología
 - Variación antigénica y genética
 - Comportamiento temporal de influenza A y B
- *Pandemia del año 2009: experiencia en Uruguay*
- Vacunas
 - Antecedentes
 - Vacunas de uso humano
 - Vacuna aviar
- Interacción entre *S pneumoniae* y los virus influenza
- Reflexiones finales
- Bibliografía

1. Investigadora del Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, Universidad de la República, Uruguay. Ex-Profesora del Departamento de Bacteriología y Virología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

* Contacto: María Hortal. E-mail: marujahortal@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Durante siglos las enfermedades infecciosas han diezmando a poblaciones enteras, por lo que se ha procurado descubrir su causa y así lograr su prevención.

Actualmente, la vacunación es una de las intervenciones en salud más costo-efectivas para reducir la morbilidad y mortalidad por enfermedades infecciosas [1]. La historia así lo confirma con la erradicación de la viruela, y el control de la poliomielitis y del sarampión a nivel mundial. En Uruguay, el inicio de la vacunación obligatoria contra la viruela se remonta a 1911, en tanto que la vacunación contra la poliomielitis y el sarampión, se implementaron en 1957 y 1966 respectivamente [2, 3].

Dentro de las enfermedades inmunoprevenibles, las infecciones respiratorias agudas son notoriamente las más frecuentes. Su impacto urgó la necesidad de contar con medidas de control. La neumonía, aunque se observa en todas las edades, predomina en los extremos de la vida como lo ilustra la figura 1 [4]. En la infancia, en menores de cinco años, es una de las causas más frecuentes de hospitalización y en las poblaciones más desfavorecidas provoca elevada mortalidad. En los adultos con comorbilidades ocurre en todas las edades, pero es más frecuente en los mayores de 65 años, en los que patologías asociadas aumentan el riesgo vital, que es mayor cuanto mayor es la persona [5]. Una vez controladas las neumonías por la vacuna conjugada de *Haemophilus influenzae* tipo b, el agente bacteriano de mayor frecuencia es *Streptococcus pneumoniae* y, entre los virus respiratorios, los brotes anuales y las pandemias por virus influenza contribuyen al aumento de hospitalizaciones y decesos por neumonía. Cuando ambos agentes se asocian en un paciente, sus efectos se potencian mutuamente y sus resultados

pueden ser fatales [5]. En consecuencia, la prevención de esas infecciones con las vacunas disponibles, neumocócica y de influenza, es una prioridad de Salud Pública para asegurar la supervivencia infantil y disminuir costos sociales y económicos.

Lograr vacunas eficaces frente a ambos agentes es un permanente desafío. A la constante variación de los virus influenza, se suma la diversidad de serotipos del neumococo y su capacidad de intercambios genéticos intra e interespecies [6]. Por ese motivo, antes de centrarnos en el principal objetivo de esta revisión, se analizarán las características biológicas de cada uno de esos agentes patógenos y su epidemiología, para discutir luego, las posibilidades de su prevención específica. Se proporcionarán datos que evalúen los logros y se plantearán los desafíos que subsisten, recapitulando evidencias e interrogantes.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Su historia

El progreso del conocimiento de *S. pneumoniae* fue fundamental para el desarrollo de la bacteriología. Identificado por Sir William Osler en 1881, fue calificado como “el principal enemigo de los ancianos”. La imperiosa necesidad de contar con tratamientos para reducir una mortalidad que superaba 50%, estimuló el ensayo de diferentes

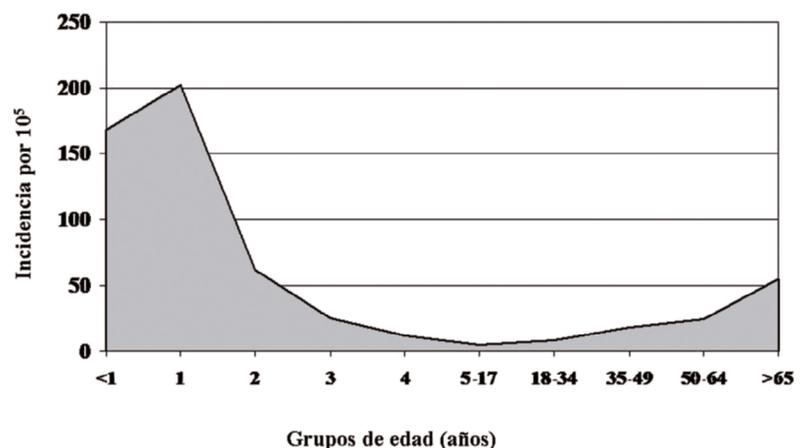


Figura 1. Incidencia de neumococcias invasoras según grupos de edad en la era prevacunación.

terapéuticas. Se administraron antisueros específicos, y en las primeras décadas del siglo XX, se ensayaron vacunas. Inicialmente en Sud África, buscando prevenir las neumonías en los mineros, se prepararon vacunas usando neumococos inactivados y luego se usó como inmunógeno el polisacárido capsular. Fue la primera vez que material subcelular fue empleado como vacuna, pues se había reconocido la participación de la cápsula en la patogenia del neumococo y su resistencia a la fagocitosis.

Estas vacunas también marcaron un hito fundamental en investigación básica. En 1928, Griffith y colaboradores demostraron que existía un factor de virulencia transmisible de un neumococo muerto a uno vivo cuando ambos se inoculaban simultáneamente en ratones. Años después una experiencia similar realizada por Avery [7] demostró que el factor responsable de la transferencia de la virulencia era ácido desoxirribonucleico (ADN). Con ese descubrimiento surgió una nueva disciplina, la biología molecular.

El éxito de la penicilina para el tratamiento de las neumococcias invasoras desalentó nuevos estudios, pues se consideró que con esa terapéutica se superaría el impacto de las enfermedades severas por *S. pneumoniae*. Si bien la mortalidad disminuyó drásticamente, un porcentaje de letalidad persistió siempre y, con el aumento progresivo de la resistencia a la penicilina, tendió a empeorar. En 1967, se aisló el primer neumococo resistente [8]. Posteriormente, durante las décadas del 80 y 90, con la diseminación mundial de serotipos resistentes a los betalactámicos y con multiresistencia a diversos antibióticos, se generó una alerta mundial que estimuló nuevamente el desarrollo de vacunas.

Estructuras bacterianas y sus funciones

Actualmente el conocimiento de la estructura molecular de *S. pneumoniae* permite profundizar en su biología, superando la visión fenotípica tradicional. No obstante, la cápsula sigue siendo

reconocida como el principal factor de virulencia, ya que confiere resistencia a la fagocitosis con supervivencia bacteriana en el medio interno de individuos con infecciones invasoras. Es una envoltura polisacáridica que se diferencia estructural y antigénicamente en 92 serotipos [9-11]. Los polisacáridos capsulares son los principales antígenos empleados en la producción de vacunas, porque son capaces de inducir una fuerte respuesta inmunitaria.

La pared celular está compuesta por peptidoglicano y ácido teicoico que contiene el polisacárido C, antígeno presente en todos los representantes de la especie. Una serie de proteínas conservadas en la especie contribuyen también a la virulencia, poseen reconocido poder antigénico y desencadenan una intensa respuesta inflamatoria [12]. Las proteínas de superficie, como la PspA y otras, así como productos bacterianos (neumolisina, autolisinas, neuraminidasas, adhesinas) se están empleando en vacunas experimentales [13].

Técnicas moleculares como la electroforesis en campos pulsados (PFGE) y la tipificación por secuencias de enzimas multilocus, (MLST) además de subtipificar el ADN de los neumococos, permitieron reconocer clones con los mismos perfiles genéticos. Esos linajes o grupos de cepas (clones) que a menudo comparten otras características biológicas (serotipos, sensibilidad a los antibióticos) han predominado en la era pre-vacunas conjugadas. Las técnicas moleculares también permiten documentar la transferencia horizontal de genes. Por ejemplo, un clon del serotipo 9V, frecuente en Europa, en el cono sur de Sud América expresó la cápsula del serotipo 14 [14]. Otro clon del serotipo 5 ampliamente difundido en la región conservó su serotipo, pero difirió en su comportamiento frente a los antibióticos (tetraciclina y cloranfenicol) debido a diferentes eventos de transferencia horizontal de genes [15].

La secuenciación completa del genoma de *S. pneumoniae* abrió máximas perspectivas para profundizar en su biología. La secuenciación de una cepa virulenta, reveló un genoma relativamente

pequeño, de 2:160.137 pares de bases. Esta secuenciación permitió identificar regiones que codifican distintas funciones biológicas relacionadas con la virulencia y la antigenicidad [16].

Resistencia a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos es uno de los recursos de las bacterias y de muchos otros organismos para asegurar su supervivencia. La presión selectiva ejercida por el uso y abuso de antibióticos fue probablemente la causa de los cambios genéticos responsables de la resistencia.

La magnitud de las alteraciones del ADN en los neumococos resistentes a penicilina, hizo sospechar que esos genes habían sido transferidos de otras especies. Se pudo probar que provenían de *S. mitis* y *S. oralis* [17]. En forma progresiva esos genes (*protein binding proteins* o PBPs) que codifican las enzimas que catalizan la síntesis de la pared celular fueron perdiendo su afinidad por el antibiótico. En los neumococos susceptibles, la penicilina al fijarse a las PBPs interfiere con la síntesis de la pared, causando la muerte bacteriana.

Otros betalactámicos como las cefalosporinas de tercera generación, también desarrollaron resistencia por un mecanismo similar al de la penicilina.

El empleo indiscriminado de la eritromicina en el tratamiento de infecciones respiratorias agudas altas de niños, fomentó la resistencia a los macrólidos [18].

Otros antibióticos no betalactámicos (cloranfenicol, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, entre otros), también expresaron resistencia, contribuyendo a la multiresistencia y limitando alternativas terapéuticas.

El Laboratorio Nacional de Referencia del Ministerio de Salud Pública (MSP) tuvo un cometido relevante en la vigilancia laboratorial de las enfermedades invasivas por neumococo, evaluando los niveles de resistencia en las cepas aisladas, mediante técnicas de referencia internacional. También las técnicas de epidemiología molecular, le permitieron rastrear la dispersión

de distintos clones resistentes, que habían sido descritos por una red internacional (Molecular Epidemiology Network, 1997) [19]. Por ejemplo, se pudo describir la introducción, en Uruguay, de un clon internacional (originalmente serotipo 9V), que en el país expresó el serotipo 14. Muy frecuente en las neumococcias infantiles, y resistente a la penicilina y al trimetoprim-sulfametoxazol. Mientras que este clon del serotipo 14 predominaba en el cono sur de Sud América, el clon multiresistente 23F, predominaba en el norte, sobretodo en México [20].

Epidemiología General

S. pneumoniae es un integrante habitual de la flora de la nasofaringe humana, su único reservorio. Se le encuentra con mayor frecuencia en niños menores de cinco años, y a veces los coloniza desde su nacimiento [21]. A lo largo de la vida, el ser humano desarrolla una respuesta inmune, haciéndose menos propenso a la colonización y con menor susceptibilidad a las infecciones neumocócicas. Sin embargo existe una pérdida paulatina de la resistencia específica en los adultos mayores que, junto con los niños menores de cinco años, son los grupos más vulnerables a la infección neumocócica [22].

El aislamiento de *S. pneumoniae* de compartimentos orgánicos normalmente estériles (sangre, LCR, líquido pleural) es el requisito para certificar la etiología neumocócica. Sin embargo, las técnicas de diagnóstico bacteriológico tienen baja sensibilidad, por lo que la participación de *S. pneumoniae* es subestimada. A la baja sensibilidad de las técnicas bacteriológicas, se agrega el hecho de que muchas neumonías no son bacteriémicas, porque el neumococo alcanza el pulmón por vía canalicular descendente. Técnicas moleculares, como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) están siendo empleadas para mejorar el diagnóstico etiológico.

Para superar esa limitación del diagnóstico etiológico, la OMS recomendó el uso de marcadores indirectos, como la interpretación estandarizada

de la radiografía de tórax, reconociendo neumonías consolidantes, presumiblemente causadas por neumococos [23]. Investigadores de Sud África, propusieron un marcador adicional (la proteína C reactiva) característico de la respuesta inflamatoria observada en las infecciones bacterianas [24].

En las últimas décadas de la era prevacunación, las neumococcias eran las infecciones bacterianas de mayor relevancia mundial tanto en las infecciones invasoras (meningitis, bacteriemias, sepsis y neumonías bacteriémicas) como en las infecciones de mucosas (neumonías, sinusitis, otitis media aguda). La OMS estimaba que estas infecciones causaban anualmente entre 700.000 y un millón de muertes infantiles [25]. Esa mortalidad sumada a las hospitalizaciones por enfermedades severas, tenían un costo social y asistencial incalculable.

Condiciones socioeconómicas adversas, hacían más crítica la situación en algunos países, pero en el mundo desarrollado también las neumococcias tenían un importante impacto. En EE.UU. se registraban aproximadamente 17.000 casos/año de enfermedad neumocócica invasora en menores de 5 años de edad [25].

La Oficina Panamericana de Salud (OPS) promovió un Programa Integrado de Enfermedades Prevalentes de la Infancia (AIEPI) para mejorar el manejo de los pacientes en el primer nivel de atención. Sin embargo, no se logró el efecto esperado para el control de las neumococcias, resultando imperativo contar con una vacuna polivalente, que inmunizara frente a los serotipos que mayoritariamente provocaban infecciones invasoras en los niños menores de 2 años de edad. Norte América y la mayoría de los países europeos contaban con la información necesaria para desarrollar vacunas apropiadas, pero en Latino América faltaba esa información [26]. Por ese motivo, en 1993, en el marco del Sistema Regional de

Vacunas (SIREVA), se organizó en seis países latinoamericanos (Argentina, Brasil, Chile, Colombia, México y Uruguay) una vigilancia de los serotipos invasores de *S. pneumoniae*. La distribución de los serotipos por país fue variable, lo que dificultaba la producción de una única vacuna para todo el continente. La figura 2 muestra la distribución de los principales serotipos en los países de la región antes de introducir las vacunas conjugadas neumocócicas.

Carga de enfermedad en Uruguay

Desde la década del ochenta diferentes agencias de cooperación internacional promovieron el desarrollo tecnológico e investigaciones sobre las infecciones respiratorias agudas (IRA) en niños y los agentes etiológicos responsables de esas patologías.

El National Research Council de EE.UU. organizó en 12 países de los 5 continentes, estudios de niños con IRA. En el marco de ese programa, en una comunidad de la periferia de Montevideo, se capturaron recién nacidos (n=166), y sus hermanos menores de 5 años (n= 120), que fueron seguidos en sus domicilios con visitas médicas semanales

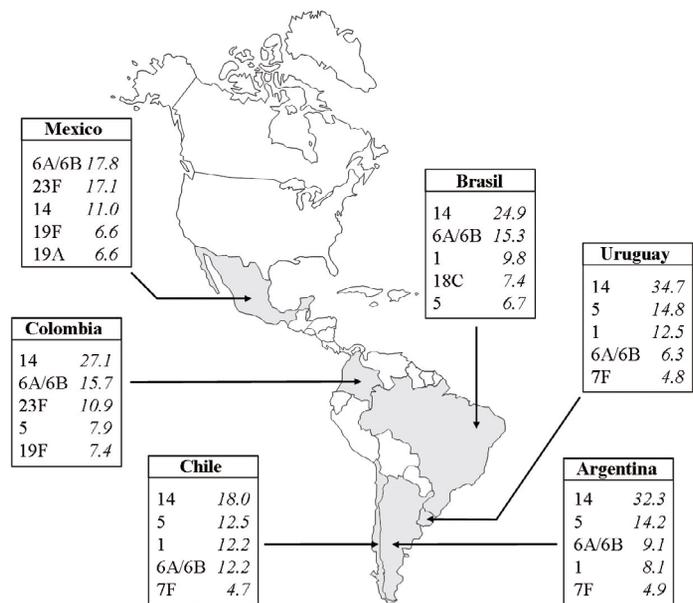


Figura 2. Variación geográfica de la distribución de serotipos de *S. pneumoniae* por país, antes de la introducción de la vacuna conjugada neumococcica.

Serotipo	<2 años			2-5 años			Total (n=506)
	Neumonía (n=188)	Meningitis (n=90)	Otros* (n=54)	Neumonía (n=142)	Meningitis (n=15)	Otros* (n=17)	
14	99	12	15	45	2	2	175
6B	7	10	4	2	0	1	24
23F	2	3	4	4	2	1	16
18C	1	3	2	0	4	1	11
9V	7	0	2	3	0	0	12
19F	0	2	1	3	1	1	8
4	0	1	1	0	0	0	2
Total 7-v	116	31	29	57	9	6	248
% cobertura	62	34	54	40	60	35	49
5	23	22	6	29	0	3	83
1	8	3	5	33	2	4	55
Total 9-v	147	56	40	119	11	13	386
% cobertura	78	62	74	84	73	76	76
3	14	3	3	5	0	1	26
7F	7	8	1	6	1	0	23
Total 11-v	168	67	44	130	12	14	435
% cobertura	89	74	81	91	80	82	86
Otros	20	23	1	12	3	3	71

*57 sin datos de edad; + bacteriemia/sepsis, peritonitis, celulitis, sinusitis

Tabla 1. Serotipo de *S. pneumoniae* vs. grupos de edad, diagnóstico clínico y coberturas [29]

durante 28 meses. La incidencia de IRAs en los niños seguidos desde el nacimiento fue de 4.82 niño/año [27].

Durante el mismo período, en el Laboratorio Nacional de Referencia del MSP, en colaboración con el Serum Staten Institute de Dinamarca se comenzaron a tipificar los neumococos invasores procedentes de distintas instituciones asistenciales, tarea que se intensificó más tarde con la participación en SIREVA. [28, 29]. La tabla 1 muestra como la distribución de serotipos varía con la edad y las diferentes patologías. También documenta la cobertura que ofrecerían las distintas vacunas conjugadas. Se conocían los serotipos candidatos a incluir en vacunas para los niños latinoamericanos, pero faltaba información sobre la carga de enfermedad de las neumococcias,

información esencial para persuadir a las autoridades sanitarias nacionales de la urgencia de implementar la vacunación a pesar de su elevado costo.

El MSP contaba con datos de meningitis neumocócicas cuya incidencia en menores de un año de edad era de 22,4/10.000 y su mortalidad superaba 38%. A pesar de su gravedad, las internaciones por meningitis supuradas no tenían el impacto de las neumonías del niño cuyo estudio fue priorizado por OPS. Con el apoyo de OPS, se organizó una vigilancia de base poblacional de las neumonías del niño hospitalizado, en un área seleccionada de Uruguay (departamentos Paysandú y Salto).

Las neumonías consolidantes confirmadas radiográficamente según pautas de OMS, en

menores de 2 años de edad, tuvieron, según los años observados (2001/04), una incidencia promedio anual de 1.175/100.000 [30]. También se dispuso de información sobre la incidencia de las neumonías consolidantes en pacientes mayores de 5 años, la que alcanzó a 222/100.000 en el segundo año del estudio [31].

A nivel de Latino América y del Caribe (LAC) faltaban datos de la carga de neumonía en niños mayores de 5 años y de adultos de todas las edades. Por ese motivo, en el año 2012, el Instituto Sabin de Washington DC, reunió a un grupo de expertos para procurar información. Abundaban las publicaciones de estudios clínicos sobre neumonías y meningitis en adultos, pero no fue posible evaluar la carga de enfermedad de las neumococcias. Únicamente se calculó el costo de las neumococcias en los adultos, lo que conjuntamente con la distribución de serotipos registrada por SIREVA constituye un valioso antecedente para la toma de decisiones [32].

Vacunas neumocóccicas *Vacuna polisacáridica 23-valente*

Recién en la década del setenta, Austrian logró la aprobación de una vacuna con polisacáridos capsulares de 14 serotipos cuya cobertura fue muy reducida. Realizó entonces una encuesta mundial, de la que participó Uruguay, con el fin de conocer los serotipos que con mayor frecuencia producían infecciones severas. Basado en esos resultados produjo una vacuna con los polisacáridos de los 23 serotipos predominantes (1, 2, 3, 4, 5, 6 B, 7 F, 8, 9 N, 9 V, 10 A, 11 A, 12 F, 14, 15 B, 17 F, 18 C, 19 A, 19 F, 20, 22 F, 23 F, 33 F), la que estuvo disponible a partir de 1983 [32]. La vacuna genera respuesta inmunitaria en niños a partir de los 2 años de edad. Está indicada una sola dosis en niños y adultos con factores de riesgo para las neumococcias. En casos excepcionales, luego de cinco años, está indicada una segunda dosis. Siguiendo recomendaciones del Comité Internacional de Expertos en Inmunizaciones, el MSP comenzó a promover la vacunación voluntaria de adultos de 65 años y más,

conjuntamente con la vacunación anual contra la influenza. Recientemente la misma Comisión, recomendó la vacunación de adultos con la conjugada 13-valente, seguida por la 23-valente [33].

La misma recomendación efectuada para los adultos mayores podría beneficiar a niños con factores de riesgo, ya que un estudio de portación nasofaríngea en niños realizada en el 2014, demostró que 50% de los serotipos de los neumococos identificados serían cubiertos por la vacuna 23-valente (C Fernández-Borreani, comunicación personal).

Vacunas conjugadas neumocóccicas *Vacunas disponibles*

La tecnología empleada en la vacuna conjugada para *H influenzae* tipo b y su efectividad en el control de las meningitis y neumonías, incentivó la producción de vacunas conjugadas neumocóccicas (VCN) con similar tecnología para el control de las infecciones por *S. pneumoniae*. Se requería una vacuna multivalente, con una selección de los polisacáridos capsulares de los serotipos invasores más frecuentes, cada uno conjugado a una proteína transportadora o "carrier". Esa proteína empleada tanto en la vacuna 7-valente como en la 13-valente, es una variante atóxica de la toxina diftérica CRM197. Los polisacáridos purificados son antígenos T-independientes que no estimulan la producción de anticuerpos en los niños pequeños (< 2 años), en tanto que al unirles una proteína, los convierte en antígenos T-dependientes, efectivos en lactantes y que a su vez generan memoria inmunológica [35, 36].

Experiencias de campo demostraron la inocuidad e inmunogenicidad de dos vacunas conjugadas, una heptavalente y otra nonavalente [37, 38].

En el año 2000 se autorizó, en EE.UU., el uso, en niños, de la vacuna conjugada heptavalente. Contiene, en su fórmula, antígenos capsulares de los serotipos 4, 6 B, 9 V, 14, 18 C, 19 F, y 23 F. Esa fórmula se adecuaba a la realidad epidemiológica de los países de Norte América, pero su porcentaje de cobertura para el Cono Sur de Sud América era mucho menor [29].

En Europa, en marzo 2009, se aprobó otra vacuna con polisacáridos de 10 serotipos (1, 4, 5, 6 B, 7 F, 9 V, 14, 18 C, 19 F y 23 F), conjugados a una proteína D de *Haemophilus influenzae* (una lipoproteína conservada de 42 kDa de la superficie bacteriana) que potencialmente estimularía a la vez, anticuerpos anti-*Haemophilus* no tipificables, no controlados por la vacuna específica para el tipo b. Su fórmula, luego de nuevas experiencias de campo, se está adaptando a la actualidad epidemiológica [39].

La vacuna 13-valente fue autorizada en el año 2010, basándose en la respuesta de anticuerpos específicos para los 6 nuevos serotipos (1, 3, 5, 6 A, 7 F, y 19 A) que se sumaban a los de la VCN7. Según una experiencia realizada en el Reino Unido, los anticuerpos para los serotipos de la PCV7 alcanzaban un nivel de protección de 95%, en tanto que los seis serotipos adicionales llegaban a 75%. Sin embargo, luego de la tercera dosis, los anticuerpos de los seis serotipos alcanzaron también el correlato de protección aceptado de 0.35 ug/ml [40].

Impacto de la vacunación

En EE.UU., la VNC7 se empezó a usar tan pronto fue aprobada, en febrero del año 2000. Se recomendó la vacunación universal de los niños según un esquema de 3 + 1, administrada a los 2, 4 y 6 meses de edad más una dosis de refuerzo entre los 12 y 15 meses de edad. Esta vacuna se empleó durante diez años (2000-2010). En marzo del 2010, se sustituyó totalmente por la VNC13 recientemente aprobada [41].

Luego de la implementación de la VCN7 en Uruguay, las hospitalizaciones de los niños menores de 2 años disminuyeron 43.1%, siendo notoria la disminución de las neumonías alveolares. En

EE.UU., esa tendencia generada por la VCN7 se mantuvo durante casi una década, posterior a la cual la VCN7 fue sustituida por la 13-valente [42].

La efectividad de las VCNs ha sido comprobada con diferentes esquemas de vacunación: 3+1 empleada en EE.UU., 3 dosis primarias sin refuerzo, o 2+1 usada con éxito en el Reino Unido, y luego aplicada en Uruguay [43].

En el año 2008, la VCN7 se implementó en Uruguay. Fue este el primer país de la Región en introducir la VCN7 en el Programa Nacional de Inmunizaciones [44]. La vacunación se inició con los niños nacidos ese mismo año y se continuó hasta marzo del 2010, cuando fue sustituida totalmente por la VCN13. La misma vacuna se ofreció en un programa de nivelación con una única dosis que abarcó niños hasta los 5 años de edad.

La misma metodología del estudio de carga de enfermedad prevacunación, realizado en Paysandú y Salto, fue empleada en la vigilancia de las neumonías consolidantes en la etapa post-vacunación. La tabla 2 compara los resultados de ambos estudios, demostrando que, en el grupo de pacientes de 12 a 23 meses de edad, hubo una reducción 44.9% de los casos [30, 45, 46]

Otros estudios con diferentes metodologías confirman los resultados obtenidos con las neumonías como indicador indirecto del efecto de la vacunación. La efectividad de la vacunación con VCN7 fue certificada por un estudio caso-control

Edad (en años)	Población en riesgo	Pre vacunación		Post vacunación*		p	%
		n	Incidencia	n	Incidencia		
0	3.534	196	2.215	132	1.142	< 0.001	33.6
1	3.690	187	2.087	103	1.117	< 0.001	44.9
2	4.328	108	999	90	832	NS	16.7
3	4.445	69	612	59	531	NS	13.2
4	4.651	59	507	46	396	NS	22.0
Total	20.651	619	1.197	430	833	> 0.001	30.4

Tabla 2. Población expuesta e incidencia de neumonías consolidantes [46]

Serotipos	< 5 años		≥ 5 años		p	Total	
	2003 – 2007 n(%)	2008 – 2012 n(%)	2003 – 2007 n(%)	2008 – 2012 n(%)		2003 – 2007 n(%)	2008 – 2012 n(%)
12F	3 (0,6)	11 (4,9)	17 (4,3)	83 (11,1)	0,0001	20 (2,2)	94 (9,7)
8	2 (0,4)	3 (1,3)	11 (2,8)	42 (5,6)	0,0292	13 (1,4)	45 (4,6)
24F	6 (1,2)	12 (5,3)	1 (0,3)	8 (1,1)	0,00179	7 (0,8)	20 (2,1)
22F	1 (0,2)	4 (1,8)	5 (1,2)	26 (3,5)	0,0278	6 (0,7)	30 (3,1)
24 ^a	0	5 (2,2)	0	2 (0,3)	0,546	0	7 (0,7)
15C	0	3 (1,3)	1 (0,3)	3 (0,4)	1	1 (0,1)	6 (0,6)
9N	1 (0,2)	3 (1,3)	1 (0,3)	9 (1,2)	0,1785	2 (0,2)	12 (1,2)
10 ^a	0	3 (1,3)	2 (0,5)	4 (0,5)	1	2 (0,2)	7 (0,7)
33*	0	4 (1,8)	2 (0,5)	1 (0,1)	0,2771	2 (0,2)	5 (0,5)
Total IPD	516 (100)	226 (100)	397 (100)	748 (100)		913 (100)	974 (100)

doi: 10.1371/journal.pone.0112337.t004 [51]

Tabla 3. Aumento de la frecuencia de serotipos no vacunales luego de introducción de las VCNs en Uruguay

[47]. También en el Hospital de Niños del Centro Hospitalario Pereira Rossell, se demostró la reducción significativa de hospitalizaciones por neumonía, luego de implementada la VCN7 [48]. Se evaluó además, el efecto de diferente número de dosis de VCN7 y VCN13, respectivamente en cohortes de niños nacidos en el 2008 y en el 2010. Porcentajes de reducción de 69.3% y 84.6% en las neumonías consolidantes se observaron en los niños que habían recibido las tres dosis de las VCNs [49].

Vista la efectividad de la VCN13 en la infancia, se le recomendó en adultos mayores de 65 años, seguida por la 23-valente. Se comprobó que la combinación de ambas vacunas generaba, en la población añosa, niveles satisfactorios de anticuerpos opsonocitofágicos [50].

La efectividad de las VCNs no solo se reflejó en la reducción de las principales patologías neumocócicas, sino que además se registró una notoria disminución de los principales serotipos que las causaban. Los serotipos incluidos en la VCN7 disminuyeron 95.6% y los seis que se habían agregado a la fórmula en la VCN13 cayeron 83.9% en los pacientes < de 5 años de edad [51]. Fue evidente el control de las neumococcias invasoras ocasionadas por los serotipos vacunales, que también habrían disminuido su circulación

en la comunidad por reducción de la colonización nasofaríngea, reservorio del *S. pneumoniae* [53]. En este nicho ecológico, el lugar que ocupaban los serotipos vacunales, presumiblemente fue ocupado por serotipo no vacunales [54]. Estos serotipos de remplazo ocasionalmente producen enfermedad invasora, constituyéndose en una limitante del efecto de la vacunación.

En EE.UU. y en otros países, en los años previos a la introducción de la VCN13, se diseminó un clon 19 A, multirresistente [55]. Recientemente, en Uruguay, se describió un clon multiresistente, 24 F /24 A, ya reconocido en Europa [56]. La tabla 3 muestra el aumento de la frecuencia de serotipos no vacunales luego de la implementación de las VCNs en Uruguay. Niños con comorbilidades presentan incidencias mayores de enfermedad neumocócica invasora que el resto de la población infantil, lo que indicaría que la protección de las vacunas no es suficiente en estos casos [57]. Persisten neumonías complicadas con derrame pleural, inclusive en niños vacunados [58, 59]. También subsisten neumococcias en pacientes no vacunados y enfermedad invasora por serotipos no vacunales. A pesar de las limitantes mencionadas, a la fecha, los resultados obtenidos en la región con las tres VCN, superan

ampliamente los problemas subsistentes, pero una constante vigilancia epidemiológica es imprescindible para mantener y superar los logros alcanzados.

Vacunas en desarrollo

La comunidad científica internacional consciente de la persistencia de algunas limitaciones en la prevención de las neumococcias, está encarando alternativas para conseguir vacunas más universales y de menor costo. La secuenciación total del genoma del neumococo proporcionó valiosa información que posibilita diversas iniciativas [16]. Las proteínas conservadas comunes a todos los *S. pneumoniae* son, hasta la fecha, las opciones más exploradas.

Una revisión bibliográfica de los años 2013 y 2014, mostró publicaciones sobre resultados de las VCNs aplicadas en distintas poblaciones, con distintos esquemas y en diversas situaciones, pero fueron excepcionales los artículos comunicando resultados de experiencias con nuevas vacunas [60, 61].

Sin embargo en el 9º Simposio Internacional de Neumococos y Neumococcias, realizado en Hyderabad, India, en marzo del 2014, en la Sección “Next Generation Vaccines” se comunicaron importantes experiencias con vacunas en desarrollo.

Las principales industrias productoras de vacunas promovieron investigaciones sobre nuevas vacunas. También grupos de investigadores independientes, como el de la Universidad de Alabama, en EE.UU y de Latino América, en Brasil y Cuba, presentaron avances en el tema.

Hay una vuelta al pasado al proponer vacunas con bacterias enteras inactivadas, pero ahora se emplean neumococos acapsulados, de menor virulencia. Un grupo trabaja en un modelo murino, en tanto que otro ya está realizando una experiencia fase I en adultos [62].

Predominan los proyectos de vacunas que involucran una o más proteínas asociadas a la membrana externa bacteriana, presentes en toda la

especie. Algunas vacunas ya tienen un importante grado de desarrollo que justifica se realicen ensayos fase I, pero además hay otras dos vacunas experimentales, con serotipos capsulares y toxoide de la neumolisina, que ya cursan ensayos fase II, en Gambia y en cuatro países europeos, para evaluar la respuesta inmunitaria en niños [63, 64].

VIRUS INFLUENZA

Su historia

La Influenza era conocida desde tiempos remotos. Hipócrates la describió en el año 412 BC. Su nombre surgió en Italia, en el siglo XV, donde se registró una epidemia atribuida a la “influenza de las estrellas”.

En 1933, se aisló en animales de laboratorio (*ferrets*) el primer virus de influenza humana, un virus influenza A, seguido por influenza B en 1935 e influenza C en 1950. En 1944 Burnet logró cultivar a los virus influenza en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados de gallina. Aún hoy, los cultivos en huevos embrionados son fundamentales para la producción de las vacunas.

La constante variación temporal de los virus influenza A y B determinó la necesidad de mantener una vigilancia mundial permanente. A instancias de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se creó, en 1948, en el Reino Unido, el Centro Mundial de Influenza y en 1950 se designó a un grupo de expertos para organizar la vigilancia epidemiológica mundial de la influenza y definir anualmente la fórmula de la vacuna. Cada año en febrero se decidía la composición de la vacuna a emplearse en esa temporada con 2 cepas de influenza A (H1N1 y H3N2) y una cepa de influenza B.

Actualmente existen en el mundo 4 Centros de Referencia (EE.UU., Australia, Japón, UK) y en más de 84 países funcionan Centros Nacionales de Vigilancia de la influenza. Instituciones de salud designadas como centinelas, suministran muestras que permiten diagnosticar la presencia del virus y remitir las cepas recuperadas a uno de los centros de referencia. Además se reporta

mensualmente a la OMS la frecuencia de cuadros gripales registrados por la autoridad sanitaria nacional.

En Uruguay el interés por los virus influenza conjuntamente con los virus de la poliomielitis incentivaron el desarrollo de técnicas de diagnóstico virológico. En 1955 durante un brote de influenza A se aisló el primer virus en el país [63, 64].

En 1963 el Prof. Helio Pereyra (Director del Centro Mundial de Influenza, Mill Hill, UK) luego de capacitar al personal de la Sección Virus del Instituto de Higiene, estableció el Centro Nacional de Influenza. Hubo un receso de la actividad del Centro de más de diez años, la que se reanudó en la década del ochenta, pero entonces el Centro funcionó en el Laboratorio Nacional de Referencia del MSP. La vigilancia de laboratorio se realiza de abril a setiembre en estrecha comunicación y control con el Centro de Enfermedades Comunicables (CDC) de Atlanta, Ga, EE.UU. y con la OMS. Se fortalecieron los recursos técnicos con incorporación de técnicas moleculares de diagnóstico, pero el aislamiento viral siguió siendo vital como contribución a la vigilancia mundial.

Estructuras y funciones [65]

Los virus influenza contienen un genoma con ácido ribonucleico (ARN) de cadena simple y polaridad negativa, con 8 segmentos que codifican las proteínas estructurales y no estructurales de los viriones. En base a la antigenicidad de la nucleoproteína interna y la proteína matriz se distinguen los tipos de virus A, B y C [66, 67].

Poseen una cubierta lipoproteica de la que emergen múltiples espículas glicoproteicas de diferentes estructuras y antigenicidad: hemaglutininas (HA) y neuraminidasas (NA), en base a las cuales se distinguen los subtipos. Ambas estructuras son fuertemente antigénicas y sujetas a constante variación que tiene su máxima expresión en las HA y NA de influenza A [68].

Las HA de los virus influenza A humana contienen aproximadamente 25% de la proteína total del virus. Es el principal antígeno que induce

anticuerpos neutralizantes que protegen frente a la infección. Se conocen tres variantes antigénicas, H1, H2 y H3. Cualquiera de las variantes antigénicas de la HA cumplen una función que es fundamental para la adherencia y penetración de los virus en las células del hospedero. Cuando los virus alcanzan las células de la mucosa respiratoria, la HA es clivada por una enzima local que posibilita su unión a un receptor celular (ácido siálico) iniciando la infección. Aunque sus factores de virulencia son poco conocidos, existen evidencias preliminares de que ciertos cambios en la secuencia de aminoácidos de las HA posibilitarían su clivaje por enzimas de tejidos diferentes de la mucosa respiratoria. Tal cambio permitiría que el virus agrede múltiples sectores orgánicos, adquiriendo así un pantropismo.

Influenza A tiene además dos tipos diferentes de NA, N1 y N2, que intervienen en la liberación de los virus. Son estructuras transmembrana, que a diferencia de la HA que se distribuye en forma regular en toda la superficie del virión, las NA tienden a localizarse en áreas de la envoltura donde los virus se liberarán por brotación a través de la membrana celular.

Epidemiología Generalidades

El virus de influenza A tiene un amplio rango de huéspedes, además del hombre, tales como cerdos, aves (domésticas, salvajes: acuáticas, migratorias), caballos, focas y otros con menor frecuencia. Mantienen en general, una bien definida especificidad de especie. Se les clasifica en subtipos de acuerdo con sus estructuras de superficie con 15 HA y 9 NA. Cualquier subtipo puede encontrarse en las aves pero en el hombre solo se identificaron 4 subtipos (H1N1, H1N2, H2N2, y H3N2).

El virus de la influenza B, difiere del A en algunos constituyentes proteicos y se caracteriza por afectar únicamente al hombre, causando casos esporádicos o brotes epidémicos regionales. No obstante en algunos años su actividad supera al

virus de influenza A. Posee solo una forma de HA y de NA, las que con el correr del tiempo van variando lentamente las secuencias de aminoácidos, por lo que su antigenicidad va cambiando.

El virus influenza C, tiene como único reservorio al hombre. Produce casos esporádicos y es excepcionalmente investigado.

Durante las epidemias estacionales anuales, se percibe la circulación viral por el aumento de las hospitalizaciones e incrementó de los decesos en población añosa [69]. Esas epidemias son el resultado de la circulación de un virus influenza A cuya HA sufrió una modificación en la secuencia de aminoácidos que encuentra a la población con una limitada protección específica. Es de recordar que durante la circulación de los virus, estos al multiplicarse sufren numerosos errores de copias, lo que genera una gran diversidad, por lo que algunos autores prefieren calificarlos como una “quasi-especie” [70].

Desde hace algunos años se demostró que la influenza en los niños representa un problema de mayor trascendencia de lo que se le solía atribuir. En diferentes países se comprobó que las tasas de ataque más altas por virus influenza correspondían a niños menores de 2 años y que la presencia de un niño en un hogar determinaba la aparición de otros casos en la familia [71]. La vacunación anual oportuna suele controlar su impacto social y económico [72].

Variación antigénica y genética de influenza A

La epidemiología de influenza A, se caracteriza por dos tipos de fenómenos: la deriva antigénica que produce epidemias anuales, y cambios genéticos mayores responsables de pandemias que han ocurrido con una frecuencia variable, entre 10 y 40 años [65].

La deriva antigénica, o “*drift*”, ocurre en los diferentes subtipos de la influenza A (H1, H2, H3). Durante los períodos anuales interepidémicos se producen cambios en las secuencias de aminoácidos de las HA debido a repetidas mutaciones

puntuales en el ARN. Es la resultante de la presión ejercida por diferentes grados de inmunidad de las poblaciones durante la permanente circulación de los virus en el mundo. Así los virus van cambiando sus estructuras de superficie de un año a otro, y anualmente encuentran poblaciones con protección incompleta frente a la infección. Una deriva antigénica, con menor intensidad, se produce también en los otros tipos de virus influenza (B y C).

Cambios antigénicos mayores en ambas estructuras superficiales o “*shifts*” se producen por dos mecanismos diferentes. Pueden surgir mutantes que persisten cuando poseen diferencias antigénicas, importantes, que encuentran a las poblaciones carentes de anticuerpos protectores. A veces, ocurren recombinaciones genéticas si dos virus diferentes se replican en un mismo hospedero, uno de influenza humano y otro aviar. El cerdo suele ser el hospedero que facilita este fenómeno porque es susceptible a ambos virus.

Comportamiento temporal de los virus A y B

En el siglo XX hubo cuatro cambios mayores o “*shifts*” en los antígenos del virus influenza A. La pandemia más famosa por su elevadísima mortalidad ocurrió en 1918-1920, fue la llamada “gripe española” causada por el subtipo H1N1. Se caracterizó por su agresividad, y excepcional transmisibilidad. Se estima que solo en EE.UU. en un año ocasionó 500.000 muertes. Con los recursos técnicos actuales, retrospectivamente se pudo demostrar que *S. pneumoniae* tuvo fundamental participación en las neumonías fatales atribuibles únicamente a los virus influenza A [73].

Las pandemias siguientes tuvieron menor impacto que la “española”. En 1957 la pandemia correspondió a la llamada “gripe asiática” producida por el subtipo H2N2 que sustituyó al anterior y circulo hasta 1968 cuando surgió el subtipo H3N2 con la “gripe de Hong Kong”. En 1977 reapareció el subtipo H1N1 de “gripe rusa” pero con muchísima menor agresividad y

transmisibilidad que su antecesor de 1918. En lo sucesivo, cocircularon diferentes subtipos del virus hasta que en 2009, se produjo una nueva pandemia por el subtipo H1N1.

En la última década del siglo XX surgió en Hong Kong una epizootia en pollos de criadero y se produjeron algunos casos humanos en personas que estuvieron en estrecho contacto con las aves [74]. Luego de un aparente control, resurgió el problema y el temor de una pandemia, estuvo siempre asociado al subtipo H5N1.

Pandemia del 2009: experiencia en Uruguay

Desde el comienzo de la primera década del siglo XXI cundía el temor de una pandemia por una variante del virus de la gripe aviar, adaptada al hombre. La pandemia llegó en el 2009, pero inesperadamente la produjo un virus de origen humano, una variante del subtipo H1N1, la Nueva Influenza A como se le designa en los informes del MSP. A partir del 27 de mayo del 2009, se registró en el país el primer virus pandémico. Predominaron los enfermos entre los 10 y 49 años edad, aunque se registró un rango que oscilaba entre 2 meses y 80 años. Se señalaron grupos de riesgo no tenidos en cuenta en pandemias anteriores. Tuvieron indicación de hospitalización y tratamiento con antivirales, los niños menores

de 5 años, las embarazadas, los obesos y los con trastornos metabólicos [75].

En oportunidad de la vigilancia de base poblacional que estábamos llevando a cabo en los departamentos de Paysandú y Salto, pudimos registrar el aumento de las hospitalizaciones y de las neumonías en los niños durante la circulación del virus H1N1. El primer caso certificado por el laboratorio se diagnosticó en el mes de junio y la actividad viral llegó al máximo en el tercer trimestre del año (julio/setiembre), con un discreto repique posterior (Figura 3). También, en el mismo trienio, el virus respiratorio sincicial (VRS) tuvo una intensa actividad en parte superpuesta al virus gripal.

Según los indicadores cualitativos de OMS la pandemia del 2009 tuvo en Uruguay, una amplia diseminación geográfica, intensidad baja o moderada, y un limitado impacto en los servicios de salud, a lo que contribuyó el plan de contingencia preparado para enfrentar la temida pandemia de gripe aviar [76].

Vacunas Antecedentes

Desde 1950, el Comité de Expertos decidió anualmente la fórmula más adecuada para vacunar a la población mundial contra la epidemia estacional. Sin embargo durante la temporada 1996-97 surgió en Australia (hemisferio sur) una nueva variante (A/Sydney/5/97) no incluida en la vacuna y que antigénicamente difería de la cepa A/ Wuhan de la vacuna en uso en ambos hemisferios. Luego de esa experiencia, desde 1998 se comenzó a formular 2 vacunas por año, una para el hemisferio norte y otra para el sur.

La preparación anual de las vacunas de influenza representa una carrera contra el

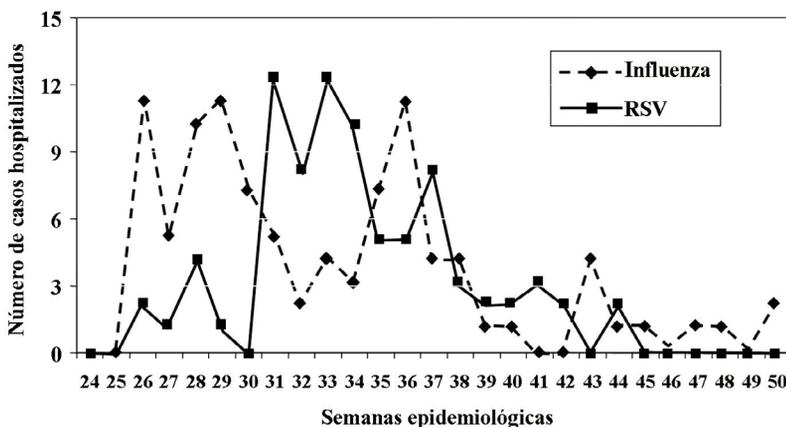


Figura 3. Registro del año 2009 de la actividad de los virus influenza y respiratorio sincicial en los departamentos de Paysandú y Salto durante las semanas epidemiológicas 24 a 50.

tiempo, la cual se torna más crítica aún cuando se enfrenta una pandemia. En menos de seis meses, es necesario lograr suficientes vacunas para responder a la demanda internacional. No siempre las cepas salvajes seleccionadas se adaptan a crecer en las estructuras embrionarias, retrasando el proceso de producción. Para obtener en un corto plazo una importante masa antigénica, se ha intentado reproducir un fenómeno que ocurre en la naturaleza: se inoculan simultáneamente en embriones, un virus de influenza conocido de crecimiento rápido y la variante epidémica de replicación lenta, aspirando a obtener una progenie con abundante producción viral y que exprese la HA de la variante epidémica. Entre otras alternativas, se ha procurado recuperar los genes que codifican la HA y la NA de la variante problema, insertándolos en un báculo virus de fácil replicación.

Se producen dos tipos de vacuna: una con virus inactivados y otra con subunidades de virus inactivado. Cada vez más se da preferencia a la vacuna con subunidades (sin adyuvantes) que contienen las fracciones efectivas para inducir anticuerpos protectores y que excepcionalmente producen efectos adversos.

La vacunación anual oportuna con vacuna influenza es la mejor estrategia preventiva para aminorar el impacto social y económico de las epidemias anuales. En Uruguay, la vacunación de influenza es voluntaria y está indicada preferentemente en los meses de marzo/abril de cada año, con una única dosis para los adultos (inclusive las embarazadas) y dos dosis para los niños que la reciben por primera vez [77-80]. También está indicada para el personal de salud que se encuentra más expuesto a la infección y además se evita el ausentismo en momentos durante los cuales aumenta la demanda asistencial [81].

La pandemia del año 2009, encontró a los laboratorios productores de vacuna aptos para dar una pronta respuesta. En un relativo corto plazo se preparó una vacuna monovalente con subunidades virales, de influenza A (H1N1) pdm09. Esta

fue aplicada intraepidemia o en forma preventiva en aquellos países en que aún no se había declarado la epidemia [82].

En períodos epidémicos se cuenta además, con dos antivirales inhibidores de la NA, el oseltamivir y el zanamivir. Ambos se emplean para el tratamiento de casos o para profilaxis post-contactos infectantes (intradomiciliarios, personal de salud, individuos con factores de riesgo) [83].

Vacunas de uso humano

En el marco de los virus respiratorios, los virus influenza A y B son los únicos virus prevenibles por una vacuna. Desde 1950, se prepara una vacuna trivalente, con virus inactivados, incluyendo dos cepas de influenza A (H1N1 H3N2) y una de influenza B [77]. Es efectiva para la prevención de la enfermedad y sus complicaciones. Administrada por vía parenteral estimula la producción de anticuerpos séricos contra la HA, los que bloquean la unión del virus con los receptores de la mucosa respiratoria. También se dispone de una vacuna con subunidades virales purificadas, HA y NA, que resultan igualmente eficaces.

En junio del 2003, en EE.UU. se autorizó el uso de una vacuna trivalente de aplicación nasal para los niños mayores de 4 años y adultos hasta los 49 años de edad. Es una vacuna, con virus vivos, atenuados por repetidos pasajes en cultivos a baja temperatura. Ofrece la ventaja de la facilidad de aplicación y su capacidad de activar los linfocitos T y de inducir inmunidad de mucosas [84]. También se está ensayando otra vacuna de aplicación nasal con subunidades virales y un adyuvante especial [80]. Entre otras alternativas es de mencionar una vacuna intradérmica, en forma de parche, aun en etapa experimental.

El MSP recomienda la vacunación voluntaria de adultos mayores (según los años, mayores de 55 o de 65 años) y todo individuo con factores de riesgo. Se aplica en la misma ocasión la vacuna neumocócica polisacarídica 23-valente, si aún no había sido administrada (corresponde una única dosis). Ambas vacunas son efectivas para

prevenir la neumonía bacteriana, la complicación más severa de la influenza.

La vacuna de influenza llega a proteger 90% de adultos saludables, siempre que la fórmula de la vacuna en uso contenga los mismos subtipos que los virus circulantes. La continua variación de influenza A no permite asegurar 100% de correlación entre las secuencias de aminoácidos de las HA de las cepas epidémicas y las vacunales. Este fenómeno, aunque con menor frecuencia, se produjo en los virus de influenza B, tal como se demostró en Uruguay en el año 2002 [85].

Vacuna aviar

Las pandemias por virus influenza, frecuentemente surgen en países asiáticos, donde la convivencia con los animales de granja (aves y cerdos) y la superpoblación son propicios para la exitosa propagación de una mutante, con el riesgo además de que se produzca un “salto de especie” por adaptación del nuevo virus al hombre.

Las aves domésticas, las salvajes, incluyendo las acuáticas y las migratorias, constituyen un vasto reservorio de los virus influenza A, propio de esas especies. Los virus se replican predominantemente en la mucosa del tracto intestinal, y se eliminan en grandes cantidades en las heces.

En 1997, en dos mercados de Hong Kong, surgió una epizootia en pollos de criadero, por el subtipo H5N1 y se infectaron 16 humanos en estrecho contacto con las aves, de los cuales fallecieron seis. Se tomaron medidas drásticas con sacrificio de más de 25 millones de pollos, logrando un aparente control.

Tiempo después, nuevamente cundió la alarma, a causa de la reemergencia de epizootias en aves, registradas en siete países asiáticos y una relativa frecuencia de casos humanos por contacto directo con animales infectados vivos o muertos. Salvo en un caso, en Camboya, no se comprobó transmisión interhumana, pero ese riesgo estuvo siempre latente por la posibilidad de la aparición de una mutante adaptada al hombre o una recombinación entre el subtipo epidémico y un virus influenza del hombre.

A la situación anterior se sumó en el 2013, en China, otra epizootia, con la emergencia de un nuevo subtipo de influenza A aviar, H7N9, que también se asoció con casos humanos [86].

Zoonosis producidas por virus influenza A en diferentes especies crean también problemas sanitarios y son importantes candidatos para la producción de vacunas, con subtipos H5N1, H7N9, H9N2 y H1N8.

Los centros especializados en la elaboración de las vacunas de aplicación estacional, oficiales y de la industria farmacéutica, realizan constantes esfuerzos para disponer de vacunas capaces de enfrentar una pandemia generada por gripe aviar. La constante evolución del subtipo H5N1 ha determinado que se disponga de más de 23 cepas candidatas para la producción de vacunas. En abril del 2007 la autoridad sanitaria de EE.UU. (Food and Drug Administration) aprobó una vacuna H5N1, que brinda 45% de protección [87].

INTERACCIONES entre S. pneumoniae y los virus influenza

Corresponde revisar las razones por las cuales se recomienda la vacuna neumocócica y la de influenza [88]. Existen argumentos epidemiológicos que justifican su implementación para reducir morbilidad y mortalidad así como los costos sociales y asistenciales. No obstante, hay razones biológicas de mayor trascendencia [89]. Es un hecho reconocido en medicina clínico-asistencial, que los virus alteran la mucosa respiratoria de los pacientes, lo que facilita la “sobre infección bacteriana”.

La co-infección por ambos agentes tiene un efecto sinérgico, por el cual los neumococos contribuyen a potenciar la agresión de los virus influenza y viceversa, las neuraminidasas virales aumentan la acción patógena de los neumococos [90]. Enzimas bacterianas promueven el clivaje de las HAs, lo que aumenta el número de partículas infectantes, con mayores lesiones [85]. A su vez, los virus influenza a nivel alveolar, interfieren con los efectores de la respuesta inmune local, con predominio de la reacción inflamatoria

provocada por *S. pneumoniae* [91-93]. En consecuencia, la administración de ambas vacunas, previene las co-infecciones y enfermedades más severas.

REFLEXIONES FINALES

Toda intervención con vacunas, altera equilibrios en el mundo microbiano, creando nuevos escenarios epidemiológicos en las poblaciones mundiales de niños y adultos. Son escenarios dinámicos en los cuales intervienen múltiples factores que desbordan ampliamente la relación vacuna, vacunado, o la existente entre el agente infeccioso y el ser humano susceptible. La vigilancia temporal de ese acontecer biológico es un deber de la Salud Pública, pero a la vez, la observación del comportamiento de esos agentes ancestrales, constituye una fascinante y enriquecedora experiencia.

Agradecimientos

Mi reconocimiento a las Dras. Teresa Camou, Inés Iraola, Hilda Laurani, y a Luis Giordano por la lectura crítica de esta revisión.

Referencias

- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of pneumococcal diseases. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR. 1997;46(RR-8).
- Centers for Disease Control and Prevention. Vaccine Preventable deaths and the Global Immunization Vision and Strategy, 2006-2015. MMWR. 2006; 55(18):511-5.
- Ruocco G, Hortal M. Uruguay. En: Piédrola de Angulos G, coordinador. Universalización de las vacunas. España Portugal y países iberoamericanos. Madrid: Real Academia Nacional de Medicina; 2012. p. 277-98.
- Centers for Disease Control and Prevention. Preventing pneumococcal disease among infants and young children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR. 2000;49(RR-9).
- Palacio R, Ruchansky D, Camou T, Alonso R, Goñi N, Baz M, et al. Neumonía aguda comunitaria del adulto hospitalizado : aspectos etiológicos, clínico-terapéuticos y evolutivos. Arch Med Interna. 2007; 29(1):14-20.
- Coffey TJ, Enright MC, Daniels M, Morona JK, Morona R, Hryniewicz W, et al. Recombinational exchanges at the capsular polysaccharide biosynthetic locus lead to frequent serotype changes among natural isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Mol Microbiol. 1998 Jan;27(1):73-83.
- Avery OT, MacLeod CM, McCarty M. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. J Exp Med. 1944;79(2):137-57.
- Hansman D, Bullen MM. A resistant pneumococcus. Lancet. 1967;2(7509):264-5. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(67\)92346-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(67)92346-X)
- Henrichsen J. Typing of *Streptococcus pneumoniae*: past, present and future. Am J Med. 1999;107(1A):50S-54S.
- Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol. 1995; 33(10):2759-62.
- Park IH, Park S, Hollingshead SK, Naham MH. Genetic basis for the new pneumococcal serotype 6C. Infec Immun. 2007;75(9):4482-9.
- Jedrzejewski MJ. Pneumococcal virulence factors: structure and function. Microbiol Mol Biol Rev. 2001;65(2):187-207.
- Gramajo S. Variabilidad genética y antigénica de una proteína de la superficie de *Streptococcus pneumoniae* (PspA) candidata para una vacuna. [Tesis de Maestría no publicada]. Montevideo: PEDECIBA; 2004.
- Camou T, Hortal M, Tomasz A. The apparent importation of penicillin-resistant

- capsular type 14 Spanish/French clone of *Streptococcus pneumoniae* into Uruguay in the early 1990s. *Microb Drug Resist.* 1998;4(3):219-24.
15. Gamboa L, Camou T, Hortal M, Castañeda E; Sireva-Vigía Working Group. Dissemination of *Streptococcus pneumoniae* Clone Colombia5-19 in Latin America. *J Clin Microbiol.* 2002;40(11):3042-50. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.11.3942-3950.2002>
 16. Tettelin H, Nelson KE, Paulsen IT, Eisen JA, Read TD, Peterson S, et al. Complete genome sequence of a virulent isolate of *Streptococcus pneumoniae*. *Science.* 2001;293(5529):498-506.
 17. Dowson CG, Barcus V, King S, Pickerill P, Whatmore A, Yeo M. Horizontal gene transfer and the evolution of resistance and virulence determinants in *Streptococcus*. *J Appl Microbiol.* 1997;83(S1):42S-52S. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.83.s1.5.x>
 18. Gay K, Baughman W, Miller Y, Jackson D, Whitney CG, Schuchat A, et al. The emergence of *Streptococcus pneumoniae* resistant to macrolide antimicrobial agents: six-year population-based assessment. *J Infect Dis.* 2000;182(5):1417-24. <http://dx.doi.org/10.1086/315853>
 19. Camou T. Aspectos clínicamente relevantes de la epidemiología molecular de *Streptococcus pneumoniae*. [Tesis de Doctorado, no publicada]. Montevideo: PEDECIBA; 2006.
 20. Hortal M, Lovgren M, de la Hoz F, Agudelo CI, Brandileone MC, Camou T, et al. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* in six Latin American countries: 1993-1999 surveillance. *Microb Drug Resist.* 2001;7(4):391-401.
 21. Palacio R, Camou T, Russi JC, Hortal M, Picon T, Nin M, et al. Frequency, type and associated diseases of bacteria and virus in the oropharynx of children born to human immunodeficiency virus-infected mothers. *Braz J Infect Dis.* 1998; 2(3):128-34.
 22. Austrian R. The enduring pneumococcus: unfinished business and opportunities for the future. *Microb Drug Resist.* 1997;3(2):111-5.
 23. Lagos R, Di Fabio JL, Moenne K, Muñoz A, Wasserman S, de Quadros C. El uso de la radiografía de tórax para la vigilancia de las neumonías bacterianas en niños latinoamericanos. *Rev Panam Salud Pública [Internet].* 2003 [citado 29 jun 2015];13(5):294-301. Disponible en: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892003000400004>
 24. Flood RG, Badik J, Aronoff SC. The utility of serum C-reactive protein in differentiating bacterial from nonbacterial pneumonia in children: a meta-analysis of 1230 children. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(2):97-9. <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e318157aced>
 25. Valenzuela MT, O'Loughlin R, De la Hoz F, Gomez E, Constenla D, Sinha A, et al. The burden of pneumococcal disease among Latin American and Caribbean children: review of the evidence. *Rev Panam Salud Pública.* 2009;25(3):270-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892009000300011>
 26. Di Fabio JL, Homma A, de Quadros C. Pan American Health Organization epidemiological surveillance network for *Streptococcus pneumoniae*. *Microb Drug Resist.* 1997;3(2):131-3.
 27. Hortal M, Benitez A, Contera M, Etorena P, Montano A, Meny M. A community-based study of acute respiratory tract infections in children in Uruguay. *Rev Infect Dis.* 1990;12(S8):S966-S73.
 28. Mogdasy MC, Camou T, Fajardo C, Hortal M. Colonizing and invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* in Uruguayan children: type distribution and patterns of antibiotic resistance. *Pediatr Infect Dis J.* 1992;11(8):648-52.
 29. Camou T, Palacio R, Di Fabio JL, Hortal M. Invasive pneumococcal diseases in Uruguayan children: comparison between serotype

- distribution and conjugate vaccine formulations. *Vaccine*. 2003;21(17-18):2093-6.
30. Hortal M, Estevan M, Iraola I, De Mucio B. A population-based assessment of the disease burden of consolidated pneumonia in hospitalized children under five years of age. *Internat J Infect Dis*, 2007;11(3):273-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2006.05.006>
 31. Iraola I, Estevan M, Bueno S, Calegari A, Lapedes C, Souto G, et al. La neumonía del niño hospitalizado de cinco a catorce años de edad. *Arch Pediatr Urug*. 2006;76(3):197-201.
 32. Centers for Disease Control and Prevention. Updated recommendations for prevention of invasive pneumococcal disease among adults using the 23-Valent Pneumococcal Polysaccharide Vaccine (PPSV23). *MMWR*. 2010;59(34):1102-6.
 33. Greenberg RN, Gutman A, Frenk RW, Strout C, Jansen KU, Trammel J, et al. Sequential administration of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in pneumococcal vaccine-naïve adults 60-64 years of age. *Vaccine*. 2014;32(20):2364-74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.002>
 34. Fitzwater SP, Chandran A, Santosham M, Johnson HL. The worldwide impact of the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(5):501-7. <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e31824de9f6>
 35. Andrews NJ, Waight PA, Burbidge P, Pearce E, Roalfe L, Zancolli M, et al. Serotype-specific effectiveness and correlates for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a post licensure indirect cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(9):839-46. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70822-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70822-9)
 36. 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. Northern California Permanente Vaccine Center Group. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19(3):187-95.
 37. Cutts FT, Zaman SM, Enwere G, Jaffar S, Levine OS, Okoko JB, et al. Efficacy of nine-valent pneumococcal conjugate vaccines against pneumonia and invasive pneumococcal disease in The Gambia: randomized double-blind placebo-controlled trial. *Lancet*. 2005;365(9465):1139-46.
 38. Pymula R, Peeters P, Chrobok V, Kriz P, Kovakova E, Kaliskova E, et al. Pneumococcal capsular polysaccharides conjugated to protein D for presentation of acute otitis media caused by both *Streptococcus pneumoniae* and non-typable *Haemophilus influenzae*: a randomised double-blind efficacy study. *Lancet*. 2006;367(9512):740-8.
 39. Knuf M, Pankow-Culot H, Grumert D, Rapp M, Panzer F, Kolger R, et al. Induction of immunologic memory following primary vaccination with 10-valent pneumococcal nontypeable-*Haemophilus influenzae* protein D conjugate vaccine in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31(1):e31-36. <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e3182323ac2>
 40. Goldblatt D, Southern J, Ashton L, Richmond P, Burbidge P, Tasevska J, et al. Immunogenicity and boosting after a reduced number of doses of a pneumococcal conjugate vaccine in infants and toddlers. *Pediatr Infect Dis J*. 2006;25(4):312-9.
 41. Tam I, Madoff LC, Coombes B, Pelton SI. Invasive pneumococcal disease after implementation of 13-valent conjugate vaccine. *Pediatrics*. 2014;134(2):210-7. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2014-0473>
 42. Griffin MR, Zhu Y, Moore MR, Whitney CG, Grijalva CG. US hospitalizations for pneumonia after a decade of pneumococcal vaccination. *N Engl J Med*. 2013;369(2):155-63. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1209165>
 43. O'Brien KL, Goldblatt D, Whitney CG. Why do we need a systematic review of pneumococcal conjugate vaccine dosing schedules? *Pediatr Infect Dis J*, 2014;33(Suppl 2):S107-8. <http://dx.doi.org/10.1097/>

- INF.0000000000000075
44. Comisión Honoraria para la Lucha Antituberculosa y Enfermedades Prevalentes. Programa Nacional Operativo de Inmunizaciones. Montevideo: CHLAEP. [consultada 2015 jun 29] Disponible en: <http://www.chlaep.org.uy/programas.php>
 45. Ronveaux O, Arrieta F, Curto S, Laurani H, Danovaro-Holliday MC. Assessment of the quality of immunization data produced by the national individual registration system in Uruguay, 2006. *Rev Panam Salud Publica*. 2009;26(2):153-60. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892009000800008>
 46. Hortal M, Estevan M, Laurani H, Iraola I, Meny M; Paysandú/Salto Study Group. Hospitalized children with pneumonia in Uruguay: pre and post introduction of 7 and 13-valent pneumococcal conjugated vaccine into the National Immunization Program. *Vaccine*. 2012;30(33):4934-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.054>
 47. Hortal M, Estevan M, Meny M, Iraola I, Laurani H. Impact of pneumococcal conjugate vaccines on the incidence of pneumonia in hospitalized children after five years of its introduction in Uruguay. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 [citado 2015 abr 29];9(6):e98567. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0098567>
 48. Picón T, Alonso L, García Gabarrot G, Speranza N, Casas M, Arrieta F, et al. Effectivity of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine against vaccine-type invasive disease among children in Uruguay: an evaluation using the existing data. *Vaccine*. 2013;315(Supl 3):C103-C13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.01.059>
 49. Pirez MC, Algorta G, Cedrés A, Sobrero H, Varela A, Giachetto G, et al. Impact of pneumococcal universal vaccination of hospitalizations for pneumonia and meningitis in children in Montevideo, Uruguay. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(8):669-7. <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e3182152bfl>
 50. Hortal M, Meny M, Estevan M, Arrieta F, Lauran H. Effect of 7 and 13-valent pneumococcal conjugate vaccines different number of doses for pneumonia control in 2008 and 2010 birth cohort children. *WJV* [Internet]. 2015 [citado 2015 abr 29];5(1):37-42. Disponible en: http://www.scirp.org/Journal/PaperInformation.aspx?PaperID=53371#VUE-JdJ_Oko <http://dx.doi.org/10.4236/wjv.2015.51005>
 51. Garcia Gabarrot G, López Vega M, Pérez-Giffoni G, Hernández S, Cardinal P, Félix V, et al. Effect of pneumococcal conjugate vaccination in Uruguay, a middle-income country. *PloS/One* [Internet]. 2014 [citado 2015 abr 29];9:1-10. Disponible en: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0112337> <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112337>
 52. Bogaert D, de Groot R, Hermans PM. Streptococcus pneumoniae colonization: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis*. 2004;4(3):144-53.
 53. Muñoz-Almagro C, Jordan I, Gene A, Latorre C, Garcia Garcia JJ, Pallares R. Emergence of invasive pneumococcal disease by nonvaccine serotypes in the era of 7-valent conjugate vaccine. *Clin Infect Dis*. 2006;46(2):174-83.
 54. Tyrrell GJ. The changing epidemiology of Streptococcus pneumoniae serotype 19A clonal complexes. *J Infect Dis*. 2011;203(10):1345-7. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jir056>
 55. Garcia-Gabarrot G, López Vega M, Perez-Giffoni G, Hortal M, Camou T. Emerging multidrug-resistant clone of Streptococcus pneumoniae serotype 24F/24A in Uruguay after conjugate vaccines introduction [Abstract ISPPD - 0323]. Abstracts of the 9th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases (ISPPD-9); 2014 marzo 9-13; Hyderabad, India. *Pneumonia* [Internet]. 2014 [citado 2015 abr 29];3(Spe-

- cial Issue):204. Disponible en: <https://pneumonia.org.au/index.php/pneumonia/issue/view/54/showToc>
56. Ladhani SM, Slack MPE, Andrewa NJ, Wai-gth PA, Borrow R, Miller E. Invasive pneumococcal disease after routine pneumococcal conjugate vaccination in children , England and Wales. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2013 [citado 2015 abr 29];19(1):61-8. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1901.120741>
 57. Estevan M, Martínez L, Arreseingor E, Hortal M. Persistence of pleural effusions and empiemas after pneumococcal conjugate vaccine implementation in Uruguay. *WJV* [Internet]. 2011 [citado 2015 abr 29]; 2(4). Disponible en: http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=24804#.VUFKsdJ_Oko <http://dx.doi.org/10.4236/wjv.2012.24024>
 58. Machado K, Lopez A, Pacheco H, Algorta G, Pirez C. Características del empiema paraneumónico luego del inicio de la vacunación antineumocócica: Centro Hospitalario Pereira Rossell, año 2010. *Arch. Pediatr. Urug.* 2014;85(4):212-9.
 59. Verhoeven D, Xu Q, Pichichero ME. Vaccination with Streptococcus pneumoniae trivalent recombinant PcpA, PhtD and PlyD1 protein vaccine candidate protects against lethal pneumonia in an infant murine model. *Vaccine.* 2014;30(26):3205-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.04.004>
 60. Prymula R, Pazdiora P, Traskine M, Ruggenberg JU, Borys D. Safety and immunogenicity of an investigational vaccine containing two common pneumococcal proteins in toddlers: a fase II randomized clinical trial. *Vaccine.* 2014;32(25):3025-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.066>
 61. Odutola A, Antinio M, Ogundare OE, Owaiife P, Worwul A, Greenwood B, et al. Reactogenicity, safety and immunogenicity of a protein-based pneumococcal vaccine in Gambian children aged 2-4 years : fase II randomized study. [Abstract ISPPD - 0407]. Abstracts of the 9th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases (ISPPD-9); 2014 marzo 9-13; Hyderabad, India. *Pneumonia* [Internet]. 2014 [citado 2015 abr 29];3(Special Issue):99. Disponible en: <https://pneumonia.org.au/index.php/pneumonia/issue/view/54/showToc>
 62. Prymula R, Szenborn SA, Silfverdal J, Wysocki P, Albrecht N, François A, et al. Safety and reactogenicity of two formulations of an investigational protein-based pneumococcal vaccine in infants in Europe: a phase II trial. [Abstract ISPPD - 0167]. Abstracts of the 9th International Symposium on Pneumococci and Pneumococcal Diseases (ISPPD-9); 2014 marzo 9-13; Hyderabad, India. *Pneumonia* [Internet]. 2014 [citado 2015 abr 29];3(Special Issue):116. Disponible en: <https://pneumonia.org.au/index.php/pneumonia/issue/view/54/showToc>
 63. Russi JC, Campione-Picardo J, Hortal M, Osmá-Moreira RE, Vallone E, Tosi HC, et al. Infecciones por virus influenza en el niño: primeros aislamientos virales. *Arch Pediat Uruguay* 1968;39(6):508-13.
 64. Parodi AS, Tosi HC, Stefani M. Un brote de influenza en la ciudad de Montevideo durante el año 1955. *Arch Soc Biol Montevideo.* 1955;22(1-4):90-2.
 65. Laver G, Bishofberger N, Webster RG. Disarming the flu viruses. *Sci Am.* 1999;280(1):56-65.
 66. Bramm J, Ulmanen I, Krug R. Orthomyxoviridae: the virus and their replication. En: Knipe DM, Howley PM, editores. *Fields virology.* 3a ed. Nueva York: Raven Pres; 1983. p.1353-95.
 67. Gammelin M, Altmüller A, Reinhardt E, Madler J, Harley VR, Hudson PJ, et al. Phylogenetic analysis of nucleoprotein suggests that human influenza A viruses emerged from a 19th century avian ancestor. *Mol Biol Evol.* 1990;7(2):194-200.

68. Wagner R, Matrosovich M, Klenk H. Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections. *Rev Med Virol.* 2002;12(3):159-66.
69. Simonsen L, Fekuda K, Schonberger LB, Cox NJ. The impact of influenza epidemics on hospitalizations. *J Infect Dis.* 2000;181(3):831-7.
70. Neumann G, Brownlee G, Fodor E, Kawaoka Y. Orthomyxovirus replication, transcription and polyadenylation. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2004;283:121-43.
71. Heikkiminen T, Silvenninen H, Peltola V. Burden of influenza in children in the community. *J Infect Dis.* 2004;190:1369-73.
72. Quián J, Diborboure H, Alvarez R, Gutiérrez S, Aguirre M, Abad L, et al. Cobertura de vacunación antigripal en niños de Montevideo en el año 2010. *Arch Pediat Uruguay.* 2011;82(4):223-7.
73. McCullers JA. Insights into the interaction between influenza virus and pneumococcus. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19(3):571-82. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00058-05>
74. World Health Organization. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness [Internet]. s.l: WHO; 2014 [citada 2015 abr 29]. Disponible en: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/201409_zoonotic_vaccinevirusupdate.pdf
75. Uruguay. Ministerio de Salud Pública. Plan Nacional de Contingencia para una Pandemia de Influenza. [Montevideo]: MSP, 2006.
76. Gupta RK, George R, Nguyen-Van-Tam JS. Bacterial pneumonia and pandemic influenza planning. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(8):1187-92. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.070751>
77. World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in 2015 southern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec [Internet].* 2014 [citado 2015 abr 29];89(41):441-52. Disponible en: <http://www.who.int/wer/2014/wer8941.pdf>
78. Rasmussen SA, Jamieson DJ, Bresee JS. Pandemic influenza and pregnant women. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(1):95-9. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1401.070667>
79. Jefferson T, Smith S, Demicheli V, Harnden A, Rivetti A, Pietnanton CD. Assessment of the efficacy and effectiveness of influenza vaccines in healthy children: systematic review. *Lancet* 2005;365:773-80.
80. Principi N, Esposito S. Are we ready for universal influenza vaccination in pediatrics? *Lancet Infect Dis.* 2004;4(2):75-83.
81. Centers for Disease Control and Prevention. Influenza vaccination coverage among health care personnel, United States 2013-2014 influenza season. *MMWR.* 2014;63(37):805-15.
82. World Health Organization. New influenza A (H1N1) virus: global epidemiological situation. *Wkly Epidemiol Rec [Internet].* 2009 [citado 2015 abr 29];84(25):249-57. Disponible en: <http://www.who.int/wer/2009/wer8425.pdf>
83. Jefferson T, Demicheli V, Deeks J, Rivetti D. Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(2):CD001265.
84. Bernstein DI, Yan L, Treanor J, Mendelman PM, Belshe R; Cold-Adapted, Trivalent, Influenza Vaccine Study Group. Effect of yearly vaccinations with live, attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza vaccines on antibody responses in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2003;22(1):28-34.
85. Goñi N. Variabilidad genética del virus influenza B en Uruguay. [Tesis de Maestría, no publicada]. Montevideo: PEDECIBA; 2006.
86. Treanor JJ. Expanding the options for confronting pandemic influenza. *JAMA (Comentario editorial).* 2014 Oct 8;312(14):1401-2. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2014.12558>.

- Comentario sobre: Mulligan MJ, Bernstein DI, Winokur P, Rupp R, Anderson E, Roupael N, et al. Serological responses to an avian influenza A/H7N9 vaccine mixed at the point-of-use with MF59 adjuvant: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2014 Oct 8;312(14):1409-19. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2014.12854>
87. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for protection of persons involved in U.S. avian influenza outbreak disease control and protection, US. [Internet]. Department of Health and Human Services, CDC: 2006. [citada 2015 abr 29]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/flu/avian/professional/protect-guid.htm>
88. Hortal M, Arbiza JR. Pneumococcal and influenza vaccines: a synergistic effect? [Carta]. *Pediatric Infect Dis J*. 2007;26(10):969.
89. O'Brien KL, Walters MI, Sellman J, Quinlisk P, Regnery H, Schwartz B, et al. Severe pneumococcal pneumonia in previously healthy children: the role of preceding influenza infection. *Clin Infect Dis*. 2000;30(5):784-9.
90. Peltola VT, Gopal Murti K, McCullers JA. The influenza virus neuraminidase contributes to secondary bacterial pneumonia. *J Infect Dis*. 2005;192(2):249-57. <http://dx.doi.org/10.1086/430954>
91. Brundage JF. Interaction between influenza and bacterial respiratory pathogens: implications for pandemic preparedness. *Lancet Infect Dis*. 2006;6(5):303-11.
92. Zhou H, Haber M, Ray S, Farley M, Panozzo CA, Klugman KP. Invasive pneumococcal pneumonia and respiratory virus co-infections. *Emerg Infect Dis*. 2012;18(2):294-7. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1802.102025>