



IMPACTO DE LA VACUNACION CONTRA EL NEUMOCOCO EN NIÑOS MENORES DE 5 AÑOS.

METODOLOGIA CIENTIFICA II

Grupo 41:

Liber Rodriguez

Gustavo Goytiño

Marcos Rodriguez Russi

Rodolfo La Cava



ORIENTADOR: ANALIA RIAL

Departamento Desarrollo Biotecnológico

Instituto de Higiene, Facultad de Medicina

Universidad de la República.

SETIEMBRE 2014

Índice de contenidos:

RESUMEN	3
PALABRAS CLAVES	4
ÍNDICE DE CONTENIDOS:	2
FUNDAMENTACIÓN DE LA PROPUESTA:	4
INTRODUCCIÓN:	6
OBJETIVO GENERAL:	13
METODOLOGÍA:	13
RESULTADOS:	14
CONCLUSIONES	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

Resumen

Dada la trascendencia que tiene la bacteria *Streptococcus pneumoniae* como patógeno causante de enfermedad neumocócica invasiva, y la aparición de vacunas conjugadas, en este trabajo se intenta evaluar si esta vacunación es efectiva o no en niños menores de 5 años. Inicialmente, se introdujo la vacuna PCV-7 que cubría la mayor parte de los serotipos causantes de enfermedad en algunas zonas del mundo pero no en nuestra región. Posteriormente, con la introducción de la PCV13 se alcanzó una mejor cobertura. Se discute el fenómeno de sustitución de serotipos que podría poner en riesgo la efectividad de la vacunación a largo plazo.

De la revisión realizada concluimos que estas vacunas presentan una alta eficacia en la reducción de la incidencia de enfermedades causadas por serotipos vacunales, reduciendo morbilidad y mortalidad en la población vacunada y no vacunada.

También se plantea cuál es el mejor esquema de vacunación a seguir para las vacunas conjugadas antineumocócicas existentes.

Palabras claves

- Vacunas
- Epidemiología
- Niños
- Enfermedad neumocócica invasiva
- Streptococcus pneumoniae*
- Esquema
- Sustitución
- Serotipos

Fundamentación de la propuesta:

Streptococcus pneumoniae es una bacteria causante de diversas enfermedades que van desde enfermedades graves como meningitis, septicemia y neumonía hasta infecciones más comunes como sinusitis y otitis media.

Estas enfermedades neumocócicas son una causa frecuente de morbilidad y mortalidad en todo el mundo aunque las tasas de morbilidad y mortalidad son más altas en los países en desarrollo que en los países industrializados.

La enfermedad es más común en los extremos de la edad, es decir, en los niños pequeños y en los ancianos.

Este microorganismo (*Streptococcus pneumoniae*), coloniza de manera asintomática la nasofaringe de niños y adultos y se transmite principalmente a través de la formación de aerosoles por parte de personas portadoras o enfermas.

De los más de 90 serotipos descritos hasta el momento, sólo una pequeña minoría causa enfermedad.

En la actualidad se utilizan 2 tipos de vacunas neumocócicas; vacunas conjugadas que contienen 7 (PCV 7) o 13 (PCV 13) de los polisacáridos capsulares de los serotipos más prevalentes, conjugados a una proteína carrier (de uso en niños), y una vacuna basada en el polisacárido capsular de 23 de los serotipos más prevalentes, que se usa en adultos.

La OMS recomienda la inclusión de PCV en los programas de inmunización infantil en todo el mundo, en particular en los países con mortalidad infantil alta (es decir, menores de 5 años donde la tasa de mortalidad es > 50 muertes/1000 nacimientos) .

Se plantea la disyuntiva, de si en los países donde se aplica la vacunación PCV de forma rutinaria, se ha reducido la incidencia de enfermedades graves debidas al organismo o no.

Introducción:

Streptococcus pneumoniae es un importante patógeno humano, agente etiológico reconocido de patologías como la neumonía, meningitis, sinusitis y otitis media, y con menor frecuencia de endocarditis, artritis y peritonitis.

Es una importante causa de morbilidad y mortalidad en la infancia, en todo el mundo causando 826.000 muertes por año, siendo la gran mayoría de éstas producidas en países de bajos y medianos ingresos (1).

En Uruguay, un país de ingresos medios de América del Sur, *Streptococcus pneumoniae* ha demostrado ser la causa bacteriana más común de neumonía adquirida en la comunidad así como también de meningitis. Al igual que en otras áreas del mundo, también en Uruguay los más afectados por la enfermedad causada por neumococo son los niños menores de 5 años y en particular los menores de 2 años(2).

Esta bacteria, también llamada neumococo, fue aislada por primera vez en 1881 por Pasteur, a partir de la saliva de un paciente con rabia. La asociación entre neumococo y neumonía lobar fue descrita por primera vez por Friedlander y Talamon en 1883, pero la neumonía por neumococo fue confundida con otros tipos de neumonía hasta el descubrimiento de la tinción de Gram en 1884.

De 1915 a 1945, se realizaron estudios que permitieron describir la estructura química y la antigenicidad de la cápsula polisacáridica y su virulencia y el papel de estos polisacáridos bacterianos en las enfermedades humanas. Más de 80 serotipos de neumococo habían sido descritos hasta 1940, alcanzando a más de 90 en la actualidad.

Su reservorio natural es la nasofaringe de los portadores asintomáticos. No hay ningún animal o insecto vector que intervenga. La transmisión se produce como resultado del contacto directo de persona a persona mediante gotitas respiratorias y la auto inoculación de las bacterias en sus vías respiratorias superiores. La propagación del organismo dentro de una familia o del hogar está influenciada por factores tales como el hacinamiento, la estación del año y

la presencia de infecciones respiratorias superiores o enfermedades neumocócicas como neumonía u otitis media.

Streptococcus pneumoniae, es un coco Gram positivo que se agrupa formando cadenas en medio líquido. Desde el punto de vista nutricional, se trata de un microorganismo exigente, que requiere de una atmósfera enriquecida con 5-10% de CO₂ para su desarrollo óptimo. Posee una alfa-hemolisina que degrada la hemoglobina, dando un color verde alrededor de la colonia cuando se desarrolla en agar sangre (3).

El peptidoglicano y los ácidos teicoicos son los constituyentes principales de la pared celular. La integridad de la misma, depende de la presencia de numerosas cadenas peptídicas laterales, que están entrelazadas por enzimas (transpeptidas y carboxipeptidas), siendo el sitio activo de estas enzimas el punto de unión de los antibióticos betalactámicos.

Un constituyente único de los neumococos es el polisacárido C, un ácido teicoico compuesto por un fosfato de colina covalentemente unido al peptidoglicano en la capa externa de la pared celular. Por fuera de ésta pared se encuentra una cápsula de naturaleza polisacáridica presente en prácticamente todos los aislamientos clínicos.

La adherencia bacteriana es el primer paso en la generación de infección. Recientemente se ha descubierto una adhesina (cuya naturaleza química aún no ha sido dilucidada en el neumococo), que le permite unirse a receptores específicos de las células epiteliales.

Una vez que la colonización ha tenido lugar, la infección se produce si los microorganismos son llevados a sitios donde los mecanismos defensivos específicos e inespecíficos del huésped no los eliminan. Las infecciones por neumococo pueden desarrollarse localizadas o ser invasivas (Tabla I). Las infecciones localizadas son mucho más frecuentes que las infecciones invasivas.

TABLA I. Localizaciones frecuentes de infecciones por neumococo

<i>Infección localizada</i>	<i>Infección invasiva</i>
Otitis media	Bacteriemia/sepsis
Sinusitis	Meningitis
Neumonía	Osteomielitis/artritis séptica
Conjuntivitis	Neumonía complicada, empiema

S. pneumoniae produce pocas toxinas, pero tiene la capacidad de producir enfermedad por su habilidad para escapar a la fagocitosis y por su capacidad de replicarse en los tejidos del huésped y generar una respuesta inflamatoria intensa.

Existen amplias evidencias de que la respuesta de anticuerpos anticapsulares otorga una protección efectiva contra la infección neumocócica, apareciendo anticuerpos anticapsulares específicos a los 5-8 días de comenzada la infección, que es el tiempo en que la fiebre desaparece cuando no media tratamiento antimicrobiano. Es por esto que las vacunas desarrolladas hasta el momento han estado centradas en el polisacárido capsular, además dada la existencia de tantos serotipos diferentes es que se han buscado vacunas multivalentes (3).

El primer intento de crear una vacuna antineumocócica fue llevado adelante por Wrigth en 1911, efectuando un ensayo entre los trabajadores de las minas de oro sudafricanos. (4). Este grupo tenía una tasa de ataque de neumonía neumocócica muy alta, de alrededor de 100 casos por cada 100.000/personas/año (5).

El resultado no fue bueno pues no se tuvo en cuenta la diversidad de serotipos de la población estudiada.

Años más tarde, McLeod y otros, demostraron la eficacia de una vacuna polivalente con cuatro polisacáridos capsulares, en un ensayo realizado en una población militar con más de 8.000 casos entre vacunados y controles con placebo (6).

Con la llegada de la penicilina en 1940, se olvidaron un poco los trabajos con

vacunas, debido a los buenos resultados obtenidos en el tratamiento de las infecciones neumocóccicas con el antibiótico.

En 1977 se comercializó la primer vacuna antineumocóccica a base de polisacáridos, constituida por 14 serotipos y posteriormente, en el '83, se comercializó la vacuna de segunda generación que incluye 23 serotipos (7)(8).

Actualmente, existen dos tipos de vacunas disponibles para la prevención de las infecciones neumocóccicas a saber, las vacunas basadas en polisacáridos (PPV) y las vacunas conjugadas (PCV) (9)(10).

La vacuna de uso más común es la que contiene polisacáridos de 23 serotipos (PPV23) y dentro de las PCV, la que contiene polisacáridos de 13 serotipos (PCV13), conjugados con una proteína vehículo que es una variante no tóxica de la toxina diftérica (CRM 197) (9).

PPV23 ha sido recomendada desde mediados de la década de 1980 para su uso en adultos (19 a 64 años) que tengan cualquiera de las condiciones de riesgo para el desarrollo de enfermedad neumocóccica invasiva (ENI), pues tiene un excelente porcentaje de cobertura (es decir que cubre los serotipos principalmente implicados en las infecciones invasivas en adultos). El principal problema de esta vacuna polisacarídica es que no induce memoria inmunológica y que no es inmunogénica en niños menores de 2 años, que son la principal población de riesgo. Se considera que esta vacuna PPV23 es capaz de reducir la incidencia de ENI en el anciano sano, y es por esto que se recomienda su aplicación en personas mayores de 65 años. Sin embargo, algunos de los meta- análisis revisados en Cadeddu et al, 2012 no permiten apoyar estadísticamente la aparente eficacia de PPV23 en la reducción de la incidencia de ENI. En este sentido, hay que tener en cuenta las limitaciones y heterogeneidad metodológica de esos estudios, que de acuerdo a lo planteado por los autores, no permite extraer conclusiones definitivas (11)(12).

La vacuna PPV23 tiene una serie de limitaciones, la más importante es la falta de inmunogenicidad en niños menores de 2 años. Las limitaciones adicionales incluyen: i) la eficacia transitoria en los ancianos sanos; ii) la falta de eficacia en los ancianos frágiles; iii) el impacto poco trascendente en la colonización de la nasofaringe; y, iv) que no produce "efecto rebaño" (9)(13)(14).

Por esto es que se buscaron nuevas vacunas y en este sentido se desarrollaron las vacunas conjugadas, en las que los polisacáridos capsulares de distintos serotipos neumocócicos se conjugan químicamente a una proteína carrier o transportadora, para convertirlos en antígenos T –dependientes.

Las vacunas PCV, se han caracterizado por un aumento progresivo en el número de serotipos de las mismas (PCV-7, 10, 13). Estas vacunas conjugadas han superado muchas de las limitaciones de la PPV23.

En la Tabla 2 se describen algunas de las principales características de las vacunas polisacáridicas y de las vacunas conjugadas.

Tabla 2. Características diferenciales entre las vacunas de polisacáridos conjugadas y las vacunas de polisacáridos puros.

Vacunas basadas en polisacáridos puros	Vacunas basadas en polisacáridos conjugados a proteína
Antígenos T- independientes	Antígenos dependientes de la célula T
Escasa inmunogenicidad en niños	Inmunogénicas desde los primeros meses de vida
No Inducen memoria inmunológica	Inducen memoria inmunológica
No dan lugar a respuesta secundaria	Producen respuesta secundaria
No disminuyen la colonización nasofaríngea	Disminuyen la colonización nasofaríngea

La vacuna neumocócica conjugada PCV7 (Prevenar®, Wyeth Lederle Vaccines S.A.) fue introducida en Estados Unidos en el año 2000 y en Uruguay en marzo de 2008.

Está compuesta por 2 microgramos de cada uno de los polisacáridos capsulares de los serotipos 4, 9V, 14, 19F, 23F y 18C y 4 microgramos del serotipo 6B, conjugados a 20 microgramos del carrier proteico CRM197, que corresponde a un mutante no tóxico de la toxina diftérica , y 0,125mg de

fosfato de aluminio como adyuvante.

En cuanto a su inmunogenicidad, se ha mostrado que la administración de tres dosis de la vacuna PCV7 induce la generación de títulos de anticuerpos específicos contra los polisacáridos capsulares mayores o iguales a 0,15 mg/ml luego de la administración de tres dosis a los 2, 4 y 6 meses en casi el 100% de los lactantes, y títulos mayores a 10,1 mg/ml en el 50 al 90 % de los lactantes dependiendo de los distintos serotipos.

La respuesta fue desigual de unos serotipos a otros siendo menor en los serotipos 4, 9V y 23F (15).

También se ha observado que la administración de una dosis de refuerzo induce una respuesta inmune a nivel de mucosas que no aparecían en la primo inmunización.

La respuesta a la vacuna PCV7 en los lactantes prematuros y de bajo peso para la edad gestacional, es similar a la mostrada por niños nacidos a término, tanto en cuanto al porcentaje de seroconvertidos como a la media geométrica del título de anticuerpos generado (15). Casi el 80 % de los niños con VIH alcanzan títulos mayores o iguales a 1mg/ml aunque la respuesta es inferior a la que alcanzan los niños sanos.

Cuando la PCV7 se administra con otras vacunas como la DTP (vacuna antidiftérica -antipertussis-antitetánica), hepatitis B y con las vacunas conjugadas Hib (*Haemophilus influenzae tipo b*) y meningococo C, no se observa disminución significativa en los títulos frente a ninguno de los antígenos. Sin embargo, cuando la vacuna conjugada se administra junto con la DTPa (diftérica, tetánica y vacuna de pertussis acelular), se observa una disminución de entre el 30 y el 50 % en los títulos de anticuerpos frente a Hib, toxoide diftérico, toxina de pertussis y hemaglutinina filamentosa, si bien no varía el porcentaje de niños con títulos superiores a los que se consideran protectores para cada enfermedad. Por tanto, esta disminución, no parece tener significación clínica.

Un dato interesante, es que no se ha observado que la PCV7 produzca el fenómeno de supresión inmune inducida por el carrier (disminución o abolición de la respuesta inmune frente a los antígenos vacunales cuando el carrier

excede una determinada cantidad) cuando se administra con otras vacunas conjugadas con la misma proteína CRM 197.

Esta vacuna presenta cierta reactogenicidad, siendo frecuentes las reacciones locales, si bien éstas son leves y autolimitadas. La más frecuente es el enrojecimiento local con o sin induración.

Entre las reacciones generales destaca la fiebre, que en ocasiones supera los 39°C, sobre todo después de la segunda y tercera dosis.

La vacuna conjugada PCV 13 (nombre comercial Prevenar 13) fue aprobada para su uso en diciembre de 2009, y se introdujo en Uruguay en 2010. Esta vacuna conjugada agrega los serotipos 1, 3, 5, 6A, 7F y 19A de *Streptococcus pneumoniae* a los 7 incluidos en PCV7.

Cada uno de los 13 polisacáridos capsulares purificados están conjugados covalentemente a 2,2 microgramos de la proteína transportadora CRM197 de *Corynebacterium diphtheriae*, excepto el serotipo 6B que está conjugado a 4,4 microgramos, y adsorbidos en fosfato de aluminio.

Se ha mostrado que PCV13 puede administrarse junto con los antígenos vacunales de difteria, tétanos, tos ferina, hepatitis B, meningococo serogrupo C, sarampión, rubeola, varicela y rotavirus, bien en forma monovalente o en vacunas combinadas.

Debido a que la PCV13 es una vacuna relativamente nueva, no existe tanta información como la discutida en el caso de la vacuna PCV7.

Lo más importante es que estas vacunas innovadoras son inmunogénicas, brindando protección contra la ENI en los niños pequeños. En términos generales, producen reducciones significativas en la colonización nasofaríngea por serotipos incluidos en la vacuna, producen la inducción de protección colectiva (“efecto rebaño”), y una mayor eficacia en los inmunocomprometidos, incluyendo los ancianos frágiles y los infectados con VIH(16). En la sección de resultados se retomará la presentación de la información disponible en cuanto al impacto de esta vacuna en la epidemiología de *S. pneumoniae* y en la incidencia de la ENI.

Objetivo general:

Evaluar el impacto de la vacunación contra *Streptococcus pneumoniae* en niños menores de 5 años y analizar la distribución de serotipos antes y después de dicha vacunación en Uruguay y el mundo.

Metodología:

Para la confección de esta monografía, se planificó una serie de encuentros con la orientadora, donde se definieron los objetivos, la manera de llevarlos a cabo, y la forma de ensamblar la información obtenida.

Se realizó una búsqueda bibliográfica en Pub Med, usando palabras claves como vacunación, *Streptococcus pneumoniae*, serotipos, e infecciones pediátricas; de la que se obtuvo una serie de artículos, que aportaron la mayor parte de la información para la realización de esta monografía.

Para tener una idea cabal de lo que sucedía en Uruguay, en relación a este mismo tema, se consultó a la Dra. Teresa Camou, encargada de la Unidad de Bacteriología del Departamento de Laboratorios de la División Epidemiología, dependiente del Ministerio de Salud pública quien aportó información del año en curso, (que aún no había sido publicada).

Resultados:

Considerando que en Uruguay, al igual que en otras áreas del mundo, los más afectados por la enfermedad causada por neumococo son los niños menores de 5 años y en particular los menores de 2 años (2), el Ministerio de Salud Pública de Uruguay decidió, en marzo de 2008, introducir la vacuna PCV7 al esquema nacional de vacunación con una serie primaria de 2 dosis a los 2 y 4 meses más un refuerzo a los 12 meses y una campaña de actualización de dos dosis a los 15 y 17 meses.

Antes de la introducción de la vacuna PCV7 en Uruguay, aproximadamente un 50% de los casos de enfermedad neumocócica invasiva, en niños menores de 5 años, eran causados por serotipos que luego fueron incluidos en la PCV7 (1).

Impacto de la aplicación de las vacunas conjugadas en la incidencia de ENI

Para determinar la eficacia de la PCV7 en la reducción de la tasa de enfermedad neumocócica invasiva por serotipos incluidos en la vacuna (VT-ENI), se realizó un estudio en la población de niños menores de 5 años en Uruguay (1). Los casos fueron identificados gracias a la continua vigilancia llevada a cabo por el Laboratorio Nacional de Referencia (Ministerio de Salud Pública, Uruguay), siendo la participación en el sistema voluntaria y abierta a los microbiólogos de todo el Uruguay. Brevemente, la vigilancia implica que los aislamientos de *S. pneumoniae* de sitios normalmente estériles, obtenidos de pacientes de todas las edades, sean enviados al Laboratorio Nacional de Referencia junto con el nombre del paciente, el diagnóstico clínico, la fecha y la fuente de la muestra.

Los autores muestran que entre abril de 2008 y febrero de 2010, de los 131 casos de ENI en niños menores de 5 años que fueron analizados en el laboratorio de vigilancia epidemiológica, 44 casos correspondieron a serotipos incluidos en la vacuna PCV7 (VT-ENI), contándose en 43 de éstos con la

información del registro de vacunación. La eficacia de la vacuna fue estimada en un 91,3% tras la administración de 1 dosis de PCV7 y del 94,8% luego de la administración de la 2ª dosis de PCV7(1) .

Estos resultados muestran una alta eficacia de PCV7 contra VT- ENI, y ponen de manifiesto la utilidad de los registros de vigilancia e inmunización de alta calidad para evaluar la eficacia de las vacunas.

Los hallazgos del trabajo de Picon et al, 2013 son consistentes además con otros datos de Uruguay que evalúan el impacto de PCV7 (17). Antes de la introducción de la vacuna en 2007, se estimó que el 58% de ENI en niños menores de 2 años y el 30% en los menores de 5, era debida a los serotipos que luego se incluyeron en la vacuna. Menos de un año después de la introducción de la misma, en 2009, la proporción había caído al 9% y 23% respectivamente (1).

Otros estudios realizados en Estados Unidos, mostraron que la vacuna PCV7 presentó una eficacia del 94% contra VT- ENI entre los niños del norte de California (18) y del 83% entre los niños descendientes de indios americanos que presentan un riesgo particularmente alto para contraer la enfermedad por neumococo (19).

También demuestran que luego de la introducción de la vacuna PCV7, las tasas de ENI causados por los siete serotipos incluidos en la vacuna también se redujo sustancialmente entre los niños y adultos no vacunados.

Este efecto indirecto (ó rebaño), se debió a la reducción del estado portador nasofaríngeo de neumococo en niños vacunados y también a la reducción de la transmisión de niños vacunados a otros niños y adultos no vacunados (20).

Por otro lado, en este trabajo se estudió la tendencia de hospitalización por neumonía y meningitis en el hospital pediátrico de referencia nacional (Hospital Pereira Rossell), observándose un descenso del 56% para las tasas de todas las causas de neumonía adquirida en la comunidad y del 48% para neumonía comunitaria por neumococo (17). Como limitaciones de este estudio se debe mencionar que el número de casos fue muy pequeño y no permitió estimaciones separadas de la eficacia de la serie primaria de la vacuna y la dosis de refuerzo. Sin embargo, debido a la alta eficacia de la vacuna los

resultados mostraron ser estadísticamente significativos.

Para justificar la introducción y el uso sostenido de nuevas y costosas vacunas resulta central poder demostrar el impacto y/o la eficacia local de la introducción de las mismas Sin embargo, el costo de llevar a cabo cualquier estudio de cohorte o estudios de casos de control para medir el impacto de la vacuna y la eficacia puede ser prohibitivo para algunos países. Por esto, las inversiones en fortalecimiento epidemiológico y en vigilancia regional, pueden permitir a otros países proporcionar los datos necesarios para apoyar el uso, por ejemplo, de vacunas PCV en los programas de vacunación de rutina (1).

En un análisis de los registros bibliográficos existentes hasta la fecha se ha podido determinar la asociación entre el uso generalizado de la vacuna PCV7 con cambios epidemiológicos de la ENI (21).

Uno de los artículos analizados, realizó una revisión sistemática de estudios con datos sobre serotipos causantes de ENI en los niños menores de 5 años, previos a la vacunación antineumocócica conjugada PCV en un periodo comprendido entre 1980 y 2007, habiendo revisado un total de 1292 artículos. Los autores concluyen que entre 6 y 11 serotipos eran los responsables del 70% de los casos de ENI; de éstos, siete serotipos (1, 5, 6A, 6B, 14, 19F y 23F) eran los más comunes a nivel mundial (22). Es interesante mencionar que en el año 2000 la incidencia y mortalidad de estos siete serotipos representaron 300.000 muertes en África y 200.000 muertes en Asia.

El estudio identificó artículos publicados hasta el 15 de julio de 2007 sobre distribución de serotipos realizando la búsqueda en 12 bases de datos entre ellas Pub Med, Medline, Embase; también se estableció contacto con investigadores para llevar a cabo la vigilancia de la ENI. Dentro de los serotipos causantes de ENI, el serotipo 14 fue el más común, seguido por el serotipo 6B que ocupó el segundo lugar en todas las regiones menos en África (donde ocupó el quinto puesto) y, el serotipo 5 que ocupó el tercer lugar en África y América Latina. En cuanto a la distribución de serotipo considerando países de mayores y menores recursos, el estudio mostró que de 4678 aislamientos obtenidos de 20 de los 72 países más pobres del mundo, los serotipos mas

prevalentes eran el 14, 5 y 1 representando el 30% de los casos de ENI.(22). En los países de mayores recursos, se observó que el serotipo 14 provocó la mayor parte de los casos de ENI (24%), y los serotipos 1 y 5 representaron el 5to. y 8vo. lugar respectivamente. Los serotipos 6B, 19F y 23F representaron los siguientes serotipos más comúnmente observados en todos los países sin distinción.

En cuanto a la distribución de serotipos en función de la edad, se evaluaron un total de 49 estudios en los que se disponía de datos en niños menores y mayores de 2 años de edad. Los resultados mostraron que el serotipo 14 dominó la distribución global de serotipos para ambos grupos de edad. El serotipo 1 fue menos común entre niños menores de 2 años (donde quedó 9º.) que en el caso de los niños 2 a 4 años, donde resultó ser el 2º serotipo más prevalente. (22)

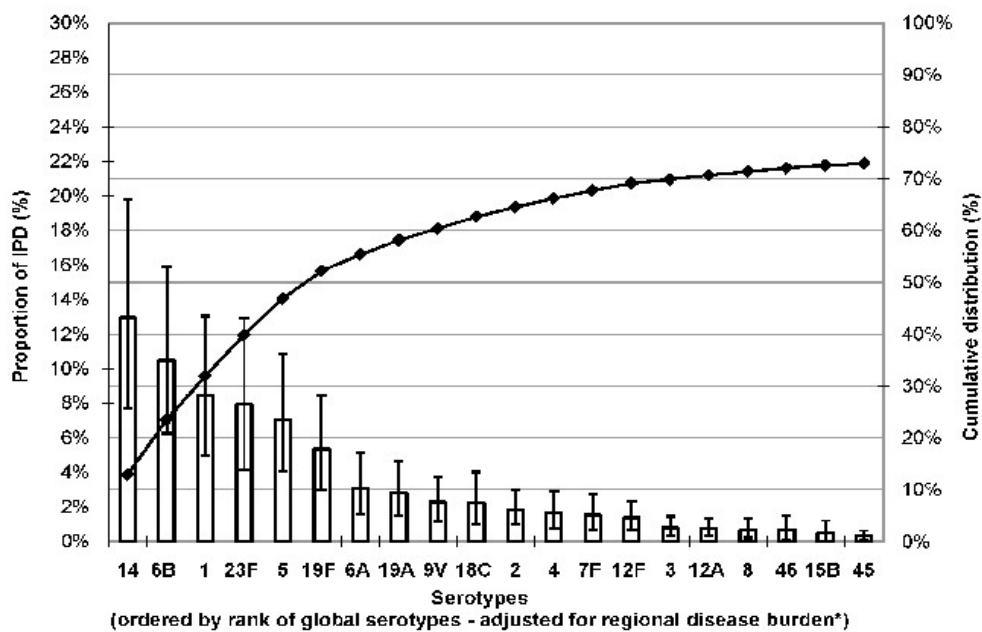


Figura 1. Proporción de ENI en niños pequeños mostrando los serotipos más comunes a nivel mundial. Tomado de Johnson et al 2010. Systematic Evaluation of Serotypes Causing Invasive Pneumococcal Disease among Children Under Five :The Pneumococcal Global Serotype Project. Plos Medicine 7 (10): e1000348

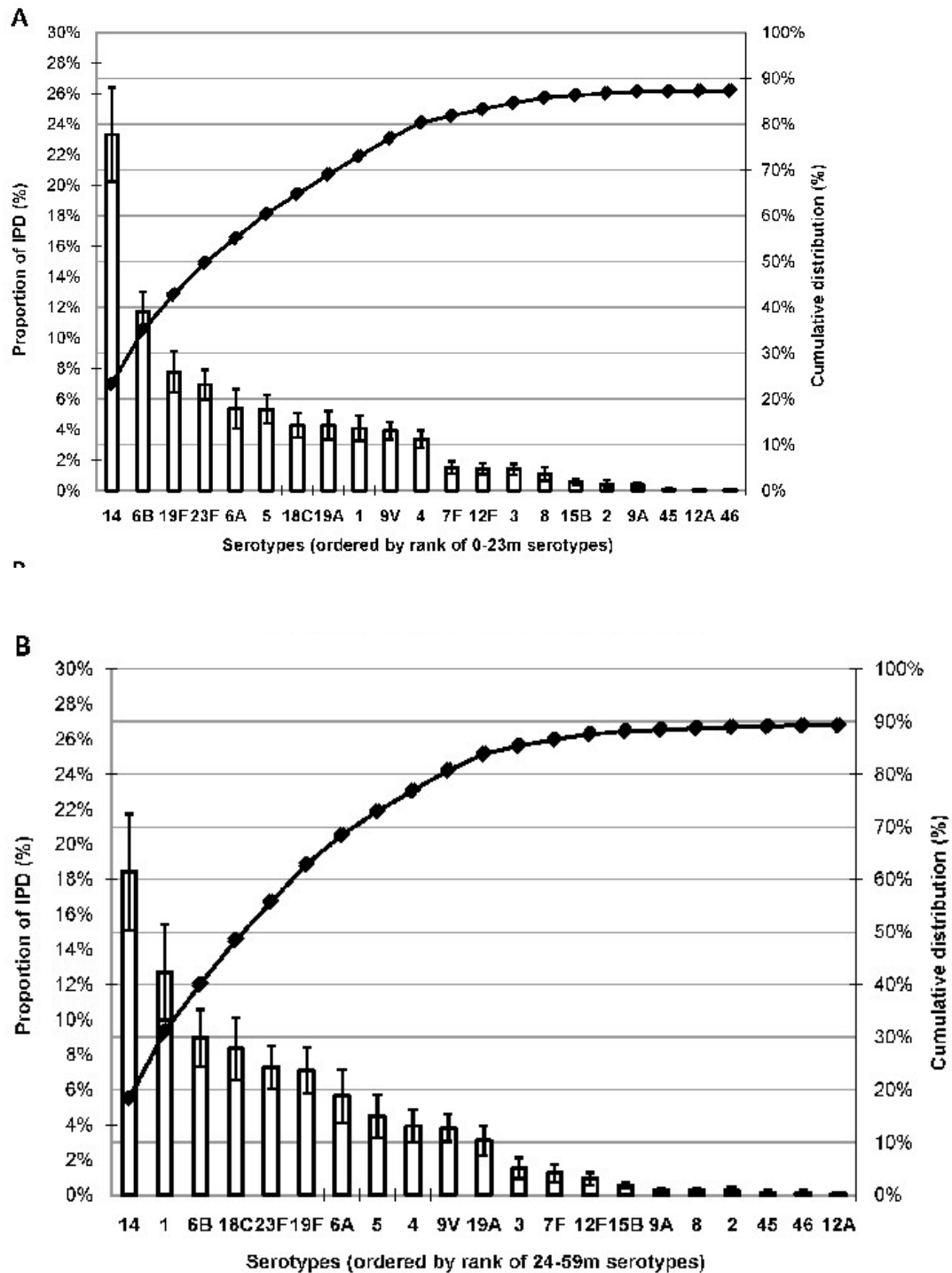


Figura 2. Proporción de ENI en niños pequeños debida a los serotipos más comunes de acuerdo a la edad. A. Niños de 0 a 23 meses. B Niños de 24 a 59 meses. Tomado de Johnson et al 2010. Systematic Evaluation of Serotypes Causing Invasive Pneumococcal Disease among Children Under Five :The Pneumococcal Global Serotype Project. Plos Medicine 7 (10): e1000348.

En el año 2000 la OMS estimó que la incidencia y mortalidad global debida a los serotipos 1, 5, 6A, 6B, 14, 19F y 23F representaron aproximadamente 9 millones de casos y 500.000 muertes debidas a ENI en niños menores de 5 años. Los serotipos incluidos en la vacuna PCV7 representaron 49% de los casos de ENI pero este porcentaje varía de una región a otra desde el 49% al 82% con coberturas más altas en Norteamérica y Europa,

La cobertura de PCV10 y PCV13 representó 70% de los serotipos más prevalentes como casua de ENI. A nivel mundial los serotipos de la PCV7 representaron aproximadamente 7,4 millones de casos y 400.000 muertes por enfermedad neumocócica en niños menores de 5 años, los serotipos adicionales incluidos en PCV10 y la PCV13 representaron 2,8 y 3,4 millones de casos de enfermedad y 170.000 y 200.000 muertes por enfermedad neumocócica, respectivamente (22).

PCV10 y PCV13 proporcionan mayor cobertura que la PCV7 en las regiones con mayor cantidad de enfermedad neumocócica.

La vacuna PCV13 ha reducido en gran medida la incidencia de la enfermedad causada por los serotipos incluidos en la vacuna.

En contrapartida, los serotipos no incluídos en las vacunas (NVTs) han aumentado entre los portadores asintomáticos en un proceso conocido como "sustitución de serotipos" (serotype replacement) (23).

Surge la interrogante de por qué la vacuna redujo con éxito la incidencia de la enfermedad neumocócica y sin embargo no se modificó la prevalencia de portadores de la bacteria. Responder esta cuestión es fundamental para predecir los impactos de futuros programas de vacunación antineumocócica.

La prevalencia y la invasividad de un serotipo están influenciados por las características microbiológicas de las cepas. Los polisacáridos capsulares juegan un importante papel en la evasión de la respuesta inmune del huésped. Estos polisacáridos capsulares varían en su capacidad para prevenir la deposición del complemento que podría influir en la capacidad invasiva de un serotipo dado. Además otros factores microbianos tales como adhesinas, toxinas y proteínas que permiten a la bacteria evitar efectores inmunes del huésped influirían en la circulación e invasión de serotipos (23).

Además, los patrones y la magnitud de la sustitución podrían ser diferentes entre aquellos individuos con inmunodeficiencias u otras comorbilidades. La mayor susceptibilidad de estos grupos de alto riesgo podría llevar a un nivel más alto de sustitución de serotipos de lo que se observa en la población general.

Por otra parte si es realmente la vacuna la causa de esta sustitución y aumento de serotipos, esto sucedería porque la vacuna crearía un nicho que sería llenado por NVTs. Sin embargo, también podría estar influenciado por el uso de antibióticos, la resistencia y otras propiedades biológicas de las cepas (23).

Los primeros informes de reemplazo de serotipos provienen de un ensayo aleatorizado controlado doble ciego realizado en Gambia (24).

Este estudio mostró que en los neonatos vacunados, se redujo significativamente la portación de cepas de neumococo de los serotipos incluidos en la vacuna pero aumentó significativamente la portación por aquellos serotipos no incluidos en la vacuna.

Otros estudios realizados en Massachusetts (EEUU)(25), Noruega, Francia, Portugal, Grecia, Alaska demostraron que los serotipos incluidos en las vacunas se han eliminado de la nasofaringe de los niños pequeños (23).

Un estudio de los aborígenes en Australia Occidental encontró que la vacuna PCV7 redujo la incidencia de ENI en los niños pequeños y los ancianos pero hubo un aumento significativo de la ENI en adultos jóvenes impulsado por aumento de los NVTs (26).

En general, la prevalencia global de pacientes portadores nasofaríngeos de *S. pneumoniae* no cambió después de la vacunación, pero la composición de serotipos pasó de una mezcla de serotipos incluidos y no incluidos en la vacuna a una composición casi exclusiva de serotipos no incluidos en la vacuna (NVTs) (23)

Estudios clínicos aleatorizados sugieren que la vacunación sería la causa de estas variaciones.

Los estudios observacionales de enfermedad invasiva por neumococo tras la introducción de la vacuna están sujetos a sesgos ecológicos y de muestreo, pero tienen la ventaja de que reflejan más exactamente el impacto en toda la

población tras la vacunación masiva. Estos sesgos se pueden minimizar centrándose en enfermedades graves bien definidas, como podría ser la meningitis, si bien los informes sobre meningitis aún podrían estar sesgados por cambios en las tasas de notificación de los sistemas de vigilancia (23).

Según datos publicados por el CDC (27) se observa que después de la implementación de los programas de inmunización infantil de rutina con la vacuna neumocócica conjugada 7-valente (PCV7), iniciados en el año 2000, la incidencia de ENI en niños menores de 5 años, en los Estados Unidos, disminuyó en un 76%; sin embargo, se observó un aumento en la incidencia de serotipos no incluidos en la PCV7, como ya se mencionó particularmente el 19A.

En febrero de 2010, el Comité Asesor sobre Prácticas de Inmunización (ACIP) recomienda el uso de una nueva vacuna; la PCV13, que contiene los siete serotipos de la PCV7 (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, y 23F) y seis serotipos adicionales (1, 3, 5, 6A, 7F, y 19A). (27)

También se usa desde 1983 la PPSV23 que ha estado disponible para adultos mayores a 65 años y los niños de edad ≥ 2 años con ciertas condiciones médicas subyacentes (28). Para recomendar la PCV13 se realizó un análisis, donde se encontró que aproximadamente el 42% de los casos de ENI en niños de 24-59 meses con condiciones médicas subyacentes fueron causadas por los serotipos que luego se incluyeron en la vacuna PCV13 y que no estaban en la PCV7; otro 13% de los casos fueron causados por serotipos no incluidos en la vacuna PCV13, pero incluidos en PPSV23.

La experiencia en los países desarrollados ha demostrado que las vacunas conjugadas neumocócicas han reducido la incidencia de la enfermedad invasiva y no invasiva.

Sin embargo hay pruebas de que la introducción de las vacunas en los programas de vacunación masiva universales, combinadas con el uso inapropiado de antibióticos está asociado a los cambios en los serotipos prevalentes mostrando una mayor distribución de aquellos serotipos no vacunales entre los que se destaca el serotipo 19A (29).

De acuerdo a un estudio publicado por Elizabeth Castañeda y colaboradores, en el cual se realizó la serotipificación de 19733 aislamientos de neumococo, provenientes de 22 países, se mostró que el 3.8% de éstos correspondían al serotipo 19A. Este serotipo fue responsable de 2,4% de episodios de otitis media aguda. En el mismo estudio se demostró que este serotipo, antes de la implementación de la vacuna PCV7, fue responsable de un número muy pequeño de casos de enfermedades neumocóccicas.

Al realizar una entrevista con la Dra. Teresa Camou, Jefa del Departamento de Microbiología del Laboratorio Nacional de Salud de Uruguay tuvimos oportunidad de analizar los últimos datos de 2013 sobre los serotipos implicados en los casos de ENI en niños en el período anterior y posterior a la vacunación con PCV7, que forman parte de un trabajo de investigación que realizó su departamento que ya está aprobado para publicación pero se encuentra en etapa de prensa.

En este trabajo se examinaron un total de 1887 aislamientos a partir de casos de ENI obtenidos 5 años antes y 5 años después de la introducción de la PCV7 (7 antes y 3 después de la introducción de la PCV13), con el fin de evaluar la incidencia de ENI por todos los serotipos, la incidencia por serotipos incluidos en PCV7 y por aquellos incluidos en PCV13, en niños menores de 2 años, entre 2 y 4 años y mayores de 5 años.

La comparación entre el período pre-vacunación (2003-2008) y el post vacunación (2008-2012) mostró una disminución significativa en la incidencia de ENI entre los niños menores de 2 años y en niños de entre 2 y 4 años. La ENI causada por serotipos incluidos en PCV7 se redujo en un 84% y por los 6 serotipos que solo están en PCV13 se redujo en un 41% en los niños menores de 5 años.

Se observaron efectos indirectos de ambas vacunas conjugadas en pacientes mayores de 5 años, ya 1 año luego de la introducción de la vacuna, esto es en 2010 para PCV7 y en 2012 para PCV13. Sin embargo, por razones que aún deben ser explicadas, probablemente debido a un sesgo en la vigilancia epidemiológica, la incidencia total de ENI en este grupo aumentó en 2007.

En 2012, se observó una disminución en la frecuencia relativa de los serotipos vacunales entre la población vacunada y no vacunada, excepto para el serotipo 3.

Los serotipos no vacunales que mostraron un incremento en su frecuencia relativa fueron en orden: 12F, 8, 24F, 22F, 24A, 15C, 9N, 10A, 33.

Asimismo se observó la emergencia en Uruguay y también ha sido reportado en algunos países de Europa, entre ellos Italia ,de una nueva clona de serotipos el 24F y 24A siendo el resultado de sustitución de serotipos luego de la introducción de la vacuna 13- valente

Impacto de PCV13 en la epidemiología de la sinusitis crónica.

Por otro lado, se ha publicado un estudio que describe el impacto de la vacuna PCV13 en la epidemiología de la sinusitis crónica, considerando casos del Hospital Infantil de Texas entre agosto de 2008 y diciembre de 2013.

Se identificaron pacientes menores de 18 años que se sometieron a cirugía endoscópica de los senos paranasales debido a la sinusitis crónica, donde los cultivos dieron positivos para *S. pneumoniae*. Se realizó serotipificación, y se recogió la información demográfica y clínica de forma retrospectiva (21).

En total, se identificaron 91 casos de sinusitis crónica positivos para *S pneumoniae*, de los cuales el 67% correspondían a aislamientos cuyos serotipos no estaban incluidos en la vacuna PCV13.

Como ya se mencionó, el uso generalizado de la PCV7 no solo alteró la patogénesis de la sinusitis bacteriana sino que también se modificó la distribución de los serotipos dentro de los aislamientos de neumococos.

El serotipo 19 A no incluido en la vacuna PCV7 fue descrito como el serotipo de neumococo más comúnmente aislado de pacientes pediátricos con sinusitis crónica en el período 2007 -2008. Se definió como período anterior a la vacunación el comprendido entre agosto de 2008 y diciembre de 2010 (29 meses), y período posterior a la vacunación de enero 2011 hasta diciembre 2013 (36 meses).

El número total de casos anuales de sinusitis por neumococo fue de 19 casos

en 2009, 26 en 2010, 11 en 2011, 20 en 2012 y solo 5 en 2013. De las 91 cepas de neumococo serotipificadas se identificaron 19 serotipos diferentes, 33% fueron por serotipos incluidos en la PCV13 y 67% fueron por serotipos no incluidos en la vacuna PCV13 (21).

El porcentaje de casos de serotipos incluidos en PCV13 disminuyó 31% en el período posterior a la administración de esta vacuna. Este descenso se debió a una reducción del 27% de los casos provocados por el serotipo 19A en el período posterior a la vacunación por PCV13. Ningún caso provocado por el serotipo 19A fue identificado en 2013 y todos los casos de 2013 se debieron a serotipos no incluidos en la PCV13 (21).

Este estudio reveló importantes cambios en la epidemiología de *S pneumoniae* en niños con sinusitis crónica después de la introducción de PCV13 en 2010. La proporción de casos de sinusitis crónica atribuibles a *S pneumoniae* mostró una disminución significativa en los 3 años siguientes a la introducción de PCV13.

El aislamiento de los serotipos incluidos en PCV13 en niños con sinusitis crónica también disminuyó significativamente, en relación con una disminución sustancial del serotipo 19 A.

Algunas limitaciones de este estudio analizado deben ser marcadas; en primer lugar, solo se estudiaron niños con sinusitis crónica, principalmente porque los pacientes pediátricos con sinusitis aguda no se someten a una punción sinusal o procedimiento endoscópico de los senos nasales a menos que su presentación se complique con un absceso orbital o un proceso intracraneal que requiera drenaje quirúrgico por lo tanto no se pueden utilizar pacientes con sinusitis aguda.

En segundo lugar algunos pacientes tuvieron recurrencia de sinusitis neumocócica durante el período de estudio pero sus cepas no estaban disponibles, por lo tanto es posible que se perdieran algunos casos de sinusitis crónica positiva para *S. pneumoniae*, subestimando la prevalencia de sinusitis crónica neumocócica.

En tercer lugar es posible que los cultivos positivos para *S. pneumoniae* reflejen la contaminación accidental de la muestra de los senos paranasales con flora nasofaríngea y no un verdadero patógeno.

Evaluación del mejor régimen posológico de administración de la PCV13

Para determinar cuál es el mejor régimen posológico, se realizó un estudio que incluyó 400 bebés que fueron asignados al azar para recibir PCV13 siguiendo distintos esquemas de vacunación. Esto es a los 2, 4 y 6 meses; a los 3 y 5 meses; a los 2, 3 y 4 meses o , a los 2 y 4 meses con una dosis de refuerzo a la edad de 11,5 meses(30).

La elección del esquema de vacunación requiere de un equilibrio entre la necesidad de protección temprana y el mantenimiento de la protección entre la serie primaria y la dosis de refuerzo.

El calendario de vacunación óptimo para lactantes debe proporcionar máxima protección sostenida directa e indirecta contra la ENI durante el uso de un mínimo número de dosis.

Para la elección de los participantes de este estudio se invitó a los padres de los recién nacidos a que puedan optar por recibir las dosis de rutina o participar del estudio, excluyéndose a los bebés que se vacunaron contra la hepatitis B (31).

Los criterios de exclusión fueron: cualquier inmunodeficiencia conocida primaria o secundaria, trastornos de la coagulación, la recepción de inmunoglobulina o hemoderivados, o la barrera del idioma.

Se obtuvieron muestras de sangre venosa de todos los participantes a distintos tiempos (al mes después de la serie primaria, a los 8 meses de edad, antes de la dosis de refuerzo a la edad de 11,5 meses, y un mes después de la dosis de refuerzo). No se tuvieron en cuenta los casos en que hubo fiebre > 38,5° dentro de las 24 horas antes de la extracción para excluir la posible interferencia de las respuestas inmunes. El método utilizado fue el test de Elisa.

De un total de 400 niños matriculados, el 99% completó el estudio. Los

resultados de este estudio mostraron que el calendario de vacunación a los 2-4-6 meses fue superior al calendario de 2-3-4 meses para los serotipos 18 C y 23 F y superior a los calendarios 2-4 meses para los serotipos 6 B, 18C Y 23 F. Para el serotipo 1 el calendario 3-5 meses fue superior al 2-4-6 meses y también para los otros dos calendarios de vacunación(30).

Este estudio fue el primer ensayo controlado aleatorizado para investigar la inmunogenicidad de la vacuna PCV13 en 4 esquemas de vacunación utilizados en la actualidad en los países de altos ingresos. El mismo no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los 4 esquemas, si bien el calendario 2-4-6 resultó con el más alto nivel de anticuerpos para la mayoría de serotipos.

La protección a largo plazo contra ENI por PCV depende de una combinación de la persistencia de los niveles de anticuerpos protectores en suero, la memoria inmunológica, y la inmunidad colectiva(32). En un análisis exploratorio, se encontró que los niveles de seroconversión considerados como títulos de anticuerpos superiores a 0,35 g/ml fueron altos después de la serie primaria en todos los calendarios para la mayoría de los serotipos, excepto para 6 B y 23 F en los calendarios 2-4; 3-5; 2-3-4 (30).

La inmunidad colectiva o de grupo está establecida independientemente del calendario asignado a través de la reducción de la circulación de serotipos incluidos en la vacuna.

Continuando la revisión bibliográfica en febrero del 2010, el Comité Asesor sobre prácticas de Inmunización (ACIP) recomienda sobre la base de la seguridad disponible, inmunogenicidad y datos sobre la carga de la enfermedad, que se debe administrar una sola dosis suplementaria de PCV13 a niños sanos de 14 a 59 meses y los niños con condiciones médicas subyacentes hasta la edad de 71 meses, que ya han completado un programa de PCV7 (3). Esto se apoya en datos obtenidos a través de un estudio que mostró que una dosis única de la PCV13 en niños de más de 12 meses que habían recibido 3 dosis anteriores de la PCV7 indujeron una respuesta de

anticuerpos comparable a la serie PCV13 de 3 dosis, siendo el perfil de seguridad de esta dosis suplementaria comparable al mostrado por la administración de una cuarta dosis de PCV13 (33).

Aunque las tasas de ENI son relativamente bajas en niños de más edad, el ACIP consideró también la aparición de cepas del serotipo 19A resistentes a múltiples fármacos que causan meningitis y otras infecciones invasivas graves (34)(35) y la importante carga de enfermedad neumocócica invasiva como factores adicionales. Evaluaciones de costo-efectividad sugieren que la vacunación con PCV13 suplementaria parece comparable en rentabilidad con otras intervenciones aceptadas (27).

Conclusiones

Luego de realizada esta revisión bibliográfica se podría concluir que con la introducción de la PCV 7 se logró controlar la ENI causada por los serotipos vacunales, lo que demostraría una alta eficacia de la vacuna PCV 7 contra la enfermedad neumocócica invasiva, logrando disminuir las tasas de hospitalización por neumonía y meningitis en Uruguay y también a nivel mundial.

Con el paso del tiempo aparece un predominio de otros serotipos no incluídos en la vacuna como causantes de ENI.

Con la vacuna PCV13 ocurre algo similar, es decir redujo significativamente la incidencia de la enfermedad producida por los serotipos incluidos en la vacuna , apareciendo otra vez el proceso de sustitución de serotipos visualizándose el aumento de ENI causada por serotipos no incluidos en la vacuna.

También se destaca que los últimos datos obtenidos en el período 2013 - principios del 2014, en Uruguay y algunos países europeos, se observa el surgimiento de una nueva clona de serotipos del 24F y el 24A , luego de la utilización de la PCV 13 .

Se debería recomendar el uso de esta vacuna PCV13, debido a que logra una disminución de la ENI tanto en los niños vacunados como en los adultos que no son vacunados que se benefician debido al “efecto rebaño”. Pero dada la información antes mencionada, se podría considerar la creación de una nueva vacuna que incluyera dichos serotipos, teniendo en cuenta, (según lo observado hasta el momento), que probablemente se produciría una nueva sustitución de los mismos.

Sabiendo que hasta hoy hay más de 90 serotipos descritos, sería una vacuna eficaz durante un cierto tiempo, hasta que se produjera una nueva sustitución de serotipos causantes de ENI.

Pensamos por tanto que se debería desarrollar e invertir en un programa que permita lograr una vacuna eficaz contra *Streptococcus pneumoniae*, que actuara sobre la misma en forma genérica y no específica sobre cada serotipo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Picón T, Alonso L, García Gabarrot G, Speranza N, Casas M, Arrieta F, et al. Effectiveness of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine against vaccine-type invasive disease among children in Uruguay: an evaluation using existing data. *Vaccine* [Internet]. Elsevier Ltd; 2013 Jul 2 [cited 2014 Aug 19];31 Suppl 3:C109–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23777683>
2. B MJG, Ch CZ, Giachetto G, Alicia L. Etiología de la neumonía bacteriana adquirida en la comunidad en niños hospitalizados. Uruguay 1998-2004. 2007;24(1):40–7.
3. Rodriguez G. Generos Streptococcus y Enterococcus. En *Temas de Bacteriología y Virologia Médica* 3a edicion Oficina del Libro FEFMUR. 2008;333–6.
4. Cecil R.L. AJH. Results of prophylactic inoculation against pneumococcus in 12.519 men. *J Exp Med*. 1945;28:19–30.
5. R. A. Pneumococcal pneumonia. *Chest*. 1986;90:738–43.
6. McLeod C.M., Hodges R.G., Heildelberger M. BW. Prevention of pneumococcal pneumonia by inmunuzation with specific capsular polysaccharides. *J Exp Med*. 1945;82:445–65.
7. Robbins J.B., Austrian R., Lee L.-J., Restogi C., Schiffman G., Henrichsen J., Mäkelä P.H., Broome C.V., Facklam R.R., Tiesjema R.H. PJCJ. Considerations for formulating the second-generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on the cross-reactive types within groups. *J Infect Dis*. 1983;148:1136–59.
8. Anónimo. An expanded pneumococcal vaccine. *Med Lett*. 1983;25:91.
9. Musher DM. Pneumococcal vaccination in adults. *UpToDate* [Internet]. 2013; Available from: www.uptodate.com
10. Scott LJ SM. Pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine (13-valent, adsorbed): a guide to its use in older adults. *Drugs Aging*. 2012;29:847e55.
11. Cadeddu C, De Waure C, Gualano MR, Di Nardo F RW. 23-Valent

- pneumococcal polysaccharide vaccine (PPV23) for the prevention of invasive pneumococcal diseases (IPDs) in the elderly: is it really effective? *J Prev Med Hyg.* 2012;53:101e3.
12. Leggat DJ, Thompson RS, Khaskhely NM, Iyer AS WM. The immune response to pneumococcal polysaccharides14 and 23F among elderly individuals consists predominantly of switched memory B cells. *J Infect Dis.* 2013;208:101e8.
 13. Falup-Pecurariu O. Lessons learnt after the introduction of the seven valent-pneumococcal conjugate vaccine toward broader spectrum conjugate vaccines. *Biomed J.* 2012;35:450e6.
 14. Miyaji EN, Oliveira MLS, Carvalho E, Ho PL. Serotype-independent pneumococcal vaccines. *Cell Mol Life Sci [Internet].* 2013 Sep [cited 2014 Sep 11];70(18):3303–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23269437>
 15. Tregnaghi MW. Manual de vacunas de Latinoamérica. Soc Latinoam Infectología Pediátrica [Internet]. 2005; Available from: http://www.slipe.org/articulos_manual_vacunas.asp
 16. Nunes MC MS. Safety, immunogenicity and efficacy of pneumococcal conjugate vaccine in HIV-infected individuals. *Hum Vaccin Immunother.* 2012;8:161e73.
 17. Pírez MC, Algorta G, Cedrés A, Sobrero H, Varela A, Giachetto G, et al. Impact of universal pneumococcal vaccination on hospitalizations for pneumonia and meningitis in children in Montevideo, Uruguay. *Pediatr Infect Dis J [Internet].* 2011 Aug [cited 2014 Jul 25];30(8):669–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21407145>
 18. Black SB, Shinefield HR, Ling S, Hansen J, Fireman B, Spring D, et al. Effectiveness of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children younger than five years of age for prevention of pneumonia. *Pediatr Infect Dis J [Internet].* 2002 Sep [cited 2014 Sep 11];21(9):810–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12352800>
 19. O'Brien KL, Moulton LH, Reid R, Weatherholtz R, Oski J, Brown L, et al. Efficacy and safety of seven-valent conjugate pneumococcal vaccine in

- American Indian children: group randomised trial. *Lancet* [Internet]. 2003 Aug 2 [cited 2014 Aug 27];362(9381):355–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12907008>
20. CDC. Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease—United States, 1998–2003. *MMWR*. 2005;54:893–7.
 21. Olarte L, Hulten KG, Lamberth L, Mason EO, Kaplan SL. Impact of the 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine on Chronic Sinusitis Associated with *Streptococcus pneumoniae* in Children. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2014 Apr 25 [cited 2014 Aug 21]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24776520>
 22. Johnson HL, Deloria-Knoll M, Levine OS, Stoszek SK, Freimanis Hance L, Reithinger R, et al. Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project. *PLoS Med* [Internet]. 2010 Oct [cited 2014 Aug 2];7(10). Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2950132&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 23. Weinberger DM, R. M, M. L. Serotype replacement in disease following pneumococcal vaccination: A discussion of the evidence. *Lancet*. 2011;378(9807):1962–73.
 24. Obaro SK, Adegbola RA, Banya WA GB. Carriage of pneumococci after pneumococcal vaccination. *Lancet*. 1996;348(9022):271–2.
 25. Huang SS, Hinrichsen VL, Stevenson AE, Rifas-Shiman SL, Kleinman K, Pelton SI, et al. Continued impact of pneumococcal conjugate vaccine on carriage in young children. *Pediatrics* [Internet]. 2009 Jul [cited 2014 Aug 27];124(1):e1–11. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2782668&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 26. Lehmann D, Willis J, Moore Hannah C, Giele C, Murphy D, Keil Anthony D et al. The Changing Epidemiology of Invasive Pneumococcal Disease

- in Aboriginal and Non-Aboriginal Western Australians from 1997 through 2007 and Emergence of Nonvaccine Serotypes. *Clinical Infectious Diseases*. 2010;50(11):1477–86.
27. CDC. Invasive pneumococcal disease in young children before licensure of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine - United States, 2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2010 Mar 12 [cited 2014 Sep 11];59(9):253–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20224541>
 28. CDC. Preventing pneumococcal disease among infants and young children. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* [Internet]. 2000 Oct 6 [cited 2014 Sep 11];49(RR-9):1–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11055835>
 29. Castañeda E, Agudelo CI, Regueira M, Corso A, Brandileone MCDC, Brandão AP, et al. Laboratory-based surveillance of *Streptococcus pneumoniae* invasive disease in children in 10 Latin American countries: a SIREVA II project, 2000-2005. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2009 Sep [cited 2014 Jul 25];28(9):e265–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19710581>
 30. Spijkerman J, Veenhoven RH, Wijmenga-Monsuur AJ, Elberse KEM, van Gageldonk PGM, Knol MJ, et al. Immunogenicity of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine administered according to 4 different primary immunization schedules in infants: a randomized clinical trial. *JAMA* [Internet]. 2013 Sep 4 [cited 2014 Jul 25];310(9):930–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24002279>
 31. Van Houdt R, Koedijk FD, Bruisten SM et al. Hepatitis B vaccination targeted at behavioural risk groups in the Netherlands: does it work? *Vaccine*. 2009;27(27):3530–3535.
 32. Pollard AJ, Perrett KP, Beverley PC. Maintaining protection against invasive bacteria with protein-polysaccharide conjugate vaccines. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2014 Sep 11];9(3):213–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19214194>

33. Kieninger DM, Kueper K, Steul K et al. Safety and immunologic non-inferiority of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to 7-valent pneumococcal conjugate vaccine given as a 4-dose series with routine vaccines in healthy infants and toddlers. Proc 48th Annu Intersci Conf Antimicrob Agents Chemother Oct 25–28, 2008 Washington, DC. 2008;
34. Pelton SI, Huot H, Finkelstein JA, Bishop CJ, Hsu KK, Kellenberg J, et al. Emergence of 19A as virulent and multidrug resistant *Pneumococcus* in Massachusetts following universal immunization of infants with pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2007 Jun [cited 2014 Sep 11];26(6):468–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17529860>
35. Kaplan SL, Barson WJ, Lin PL, Stovall SH, Bradley JS, Tan TQ, et al. Serotype 19A is the most common serotype causing invasive pneumococcal infections in children. *Pediatrics* [Internet]. 2010 Mar [cited 2014 Sep 11];125(3):429–36. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20176669>