

Seroprevalencia de anticuerpos a virus del sarampión, rubeola, parotiditis, hepatitis B y los tres serotipos de poliovirus, en niños de Quindío, Colombia

Seroprevalence of antibodies to measles, rubella, mumps, hepatitis B viruses and all three poliovirus serotypes among children in Quindío, Colombia

María M. González¹, Luis Sarmiento², Alejandra M. Giraldo¹, Leonardo Padilla¹, Gloria Rey-Benito³ y Jhon C. Castaño¹

1 Centro de Investigaciones Biomédicas. Facultad Ciencias de la Salud. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia. mmgonzalez@uniquindio.edu.co; amgiraldo@uniquindio.edu.co; leopadsa@yahoo.com; jhoncarlos@uniquindio.edu.co

2 Department of Clinical Sciences, Skåne University Hospital, Lund University. Malmö, Sweden. luis.sarmiento-perez@med.lu.se

3 Organización Panamericana de la Salud. greyb07@gmail.com

Recibido 21 Julio 2014/Enviado para Modificación 5 Febrero 2015/Aceptado 9 Septiembre 2015

RESUMEN

Objetivo Determinar la seroprevalencia de anticuerpos a virus de sarampión, rubeola, parotiditis, hepatitis B y los tres serotipos de poliovirus en población infantil del Departamento del Quindío, Colombia.

Métodos Se colectaron muestras de sangre de 170 niños en edades comprendidas entre los cinco y nueve años de nueve departamentos del Quindío. Se determinó la presencia de anticuerpos tipo IgG para sarampión, rubeola y parotiditis mediante un ELISA indirecto comercial. La inmunidad contra la poliomielitis se determinó por la presencia de anticuerpos neutralizantes a poliovirus según los métodos recomendados por OMS.

Resultados De los 170 niños estudiados, 169 (99,41 %), 170 (100 %), and 167 (98,2 %) fueron seropositivos a poliovirus 1, poliovirus 2, y poliovirus 3, respectivamente. El título promedio geométrico de anticuerpos fue 178 para poliovirus tipo 1, 120 para el tipo 2 y 56 para el tipo 3. De los 170 niños, el 96,47 % estuvo protegido contra parotiditis y rubeola y el 86,47 % contra sarampión. Se demostró respuesta serológica positiva contra el virus de la hepatitis B solamente en el 62,35 % de las muestras.

Conclusiones El programa de inmunización en el Quindío permitió la seroprotección contra los tres serotipos de la polio, rubeola y parotiditis. Sin embargo, la población infantil no está completamente protegida contra la infección con sarampión y virus de la hepatitis B.

Palabras Clave: Poliomieltis, estudios seroepidemiológicos, sarampión, hepatitis B, vacunas (*fuente: DeCS, BIREME*).

ABSTRACT

Objective The main goal of this research was to assess the seroprevalence of antibodies against measles, rubella, mumps, hepatitis B and all three poliovirus serotypes among children in the Quindío Department, Colombia.

Methods Blood samples were obtained from 170 healthy children aged 5-9 years from nine municipalities in Quindío. The presence of serum IgG antibodies against measles, rubella, mumps and Hepatitis B were determined using commercial indirect ELISA kits. Immunity to poliomyelitis was assessed through the presence of neutralizing antibodies following the method recommended by the World Health Organization.

Results Among the 170 children enrolled, 169 (99.41%), 170 (100 %), and 167 (98.2 %) were seropositive to poliovirus 1, poliovirus 2, and poliovirus 3, respectively. The average reciprocal antibody titers were 178 for poliovirus type 1, 120 for type 2 and 56 for type 3. Of the 170 children, 96.47 % were protected against mumps and rubella, and 86.47 % against measles. Only 106 (62.35 %) of the studied subjects were proved to be seropositive to hepatitis B.

Conclusion The immunization program in Quindío has provided seroprotection against all three poliomyelitis serotypes, rubella and mumps. However, the child population is not fully protected against measles and hepatitis B virus infections.

Key Words: Poliomyelitis, seroepidemiologic studies, measles, hepatitis B, vaccines (*source: MeSH, NLM*).

A partir de la oficialización del Programa Ampliado de Inmunizaciones en el año 1977, se inició un fortalecimiento del programa de vacunación en Colombia que permitió la erradicación de la poliomieltis, interrumpir la transmisión endémica del sarampión y de la rubéola así como eliminar el tétanos neonatal que se había constituido como problema de salud pública (1). Actualmente, el programa ofrece vacunas contra más de 10 enfermedades que incluyen la tuberculosis (BCG), difteria/tétanos/tosferina (DPT), poliomieltis (VOP), sarampión/rubeola/ parotiditis (SRP), toxoide tetánico, hepatitis B, haemophilus influenzae tipo b, fiebre amarilla, influenza estacional y más reciente contra rotavirus y neumococo (1).

La evaluación actual de las coberturas de vacunación en Colombia se apoya principalmente en metodologías administrativas y encuestas por muestreo. Estas metodologías permiten confirmar si se ha alcanzado coberturas de protección, entendidas estas como coberturas mayores al 95 % de la población. Sin embargo, la condición de inmunidad de aquellos individuos que han recibido los esquemas de vacunación ofrecidos por el

sistema no se verifica regularmente. Además, no se conoce que porcentaje de los vacunados que se reportan han generado una respuesta inmune protectora de acuerdo a la fase de la vacunación en que se encuentre (2).

Es de destacar que en el Quindío, el cual forma parte de los 32 Departamentos de Colombia con una población de 549 624 habitantes, las coberturas vacunales ofrecidas en el Programa Ampliado de Inmunizaciones para sarampión, rubeola, parotiditis, hepatitis B y los tres serotipos de poliovirus, se han comportado de manera fluctuante entre los años 2002 a 2006 (Tabla 1). Sin embargo, estas coberturas han descendido a partir del año 2008 (2). Por lo anterior, el presente trabajo está dirigido a evaluar la seroprevalencia de anticuerpos a virus de sarampión, rubeola, parotiditis, hepatitis B y los tres serotipos de poliovirus en niños en edades comprendidas entre los 5 y 9 años en el Departamento del Quindío, 2010.

Tabla 1. Porcentaje de coberturas vacunales ofrecidas en el Programa Ampliado de Inmunizaciones entre los años 2002 y 2006 para sarampión, rubeola, parotiditis, hepatitis B y los tres serotipos de poliovirus en el Departamento del Quindío, Colombia (2)

Vacuna	2002	2003	2004	2005	2006
VOP	85,81	127	97,41	105,83	87,83
Hepatitis B	83,85	12,89	97,49	105,83	87,84
SRP	93,13	85,29	105	108,16	92,54

VOP, Vacuna oral de Polio; SRP; Vacuna contra Sarampión, Rubeola y Parotiditis

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

Se diseñó un estudio transversal en el Departamento del Quindío, Colombia. El universo del estudio estuvo constituido por la población infantil de nueve departamentos y la muestra probabilística estuvo integrada por niños entre cinco y nueve años de edad ($n=39\ 365$). Para la selección de la muestra se realizó un muestreo aleatorio estratificado donde las unidades de muestreo fueron los nueve municipios del Departamento Quindío empleando un $\alpha=0,050$; $Z=1,960$; $p=0,850$; $e=0,050$. El tamaño mínimo de la muestra fue calculada en 170 niños el cual fue distribuido proporcionalmente según el volumen de la población de cada municipio. Se excluyeron aquellos niños con alguna inmunodeficiencia conocida o que hayan sido tratado con algún medicamento inmunosupresor en los 12 meses previos al estudio.

A cada niño se le tomó 5 ml de sangre previa solicitud del consentimiento informado los padres o acudientes mayores de 18 años que se encontra-

ban acompañando al menor. El suero fue obtenido a las 24 horas de colectada la muestra de sangre mediante centrifugación de 1 500 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente.

La presente investigación fue aprobada por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad del Quindío.

Determinación de anticuerpos neutralizantes a Poliovirus

La determinación de anticuerpos neutralizantes a Poliovirus en los sueros se realizó mediante microneutralización en placas de 96 pozos según los métodos recomendados por EPI/OMS (3). Se enfrentó el suero en diluciones desde 1:8 hasta 1:1024 con 100 TCDI₅₀ (100 50 % tissue culture infective doses) de las cepas Sabin de poliovirus tipo 1, 2, y 3. El tiempo de contacto virus suero fue de 4 horas a 37°C en atmósfera de CO₂ al 5%. Se añadió la suspensión de células HEP-2 Cincinnati, a una concentración celular de aproximadamente 1-2 x 10⁴ cel/100µL y se incubó como anteriormente durante 5 días. La lectura se realizó por observación visual del efecto citopático en microscopio óptico invertido Olympus (CK2 Trinocular Phase) y por fijación y tñido de las placas con una mezcla de formaldehído al 4,5% (v/v), etanol al 10% (v/v) y 1,2 mg/ml de cristal violeta en PBS. El cálculo de los títulos de anticuerpos neutralizantes de cada suero se realizó mediante el método de Kärber (4). De cada suero se realizaron 2 réplicas. Cada lote de prueba se acompañó de los siguientes controles: control de células, control toxicidad del suero, control de la dosis de cada virus y control de titulación utilizando un suero de referencia validado con el control internacional. La seropositividad se definió como la presencia de anticuerpos con un título de 8 o más (5).

Detección de anticuerpos tipo IgG para sarampión, rubeola, parotiditis y hepatitis B

La determinación de anticuerpos tipo IgG para sarampión, rubeola y parotiditis se realizó un ELISA indirecto comercial (Diagnostic automation INC® CA, USA). Todas las pruebas fueron realizadas con sus respectivos controles positivos y negativos, además del punto de corte por triplicado. La interpretación de la prueba, se realizó de acuerdo con criterios expresados por el fabricante. La interpretación de los resultados se realizó según los valores obtenidos como índice del estado inmune ISR(siglas del inglés Inmune Status Ratio), que se calculó e interpreto según las especificaciones del fabricante ($\leq 0,90$ negativo; 0,90-1,09 equivoco, $\geq 1,10$ positivo) para cada uno de los antígenos analizados. La determinación de anticuerpos IgG contra

el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (anti- HBs), se realizó mediante el ELISA comercial Radim[®], Roma, Italia. Se consideró como respuesta positiva a inmunización una concentración superior o igual a 10 mIU/ml. Concentraciones de anti- HBs mayor o igual que la sensibilidad analítica del kit (4 mIU/ml) se consideró como valores de anti- HBs indetectable.

Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos en Microsoft Office Excel 2007[®], se analizó la información y la prevalencia de anticuerpos se determinó con la fórmula para proporciones de Fleiss y sus respectivos intervalos de confianza.

RESULTADOS

Se detectó anticuerpos neutralizantes a poliovirus 1 en títulos mayores de 1:8 en 169/170 muestras estudiadas (99,41%, IC 96,27-99,97). El 100 % (IC 97,25 -99,95) de los sueros fue positivo para poliovirus 2 mientras que para poliovirus 3 se encontró respuesta positiva en el 98,2% de las muestras (IC 90,62-97,80) (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia de positividad de anticuerpos a virus de sarampión, rubeola, parotiditis, hepatitis B y los tres serotipos de poliovirus en niños en edades comprendidas entre los 5 y 9 años. Departamento del Quindío, Colombia, 2010

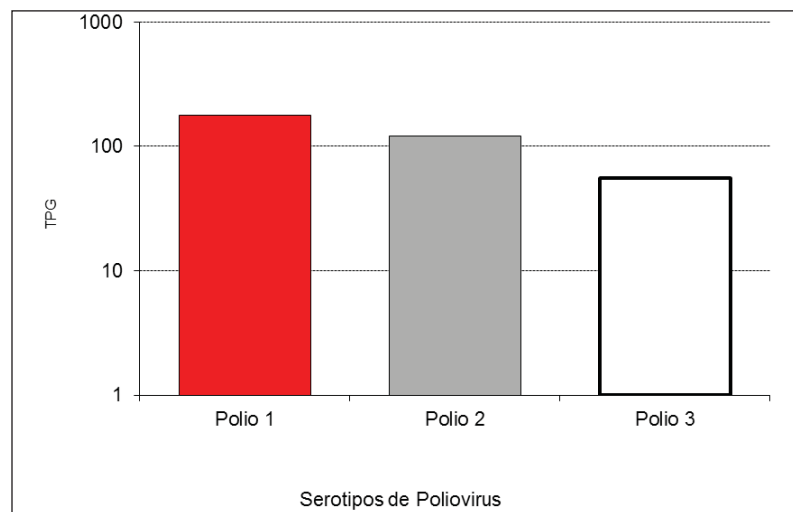
Vacuna	Virus	n	+	%	IC
VOP	Polio 1	170	169	99,4	96,26-99,97
	Polio 2	170	170	100	97,25-99,95
	Polio 3	170	167	98,2	90,62-97,80
HB	Hepatitis B	170	106	62,3	54,47-69,56
PRS	Parotiditis	170	164	96,4	92,13-98,56
	Sarampión	170	147	86,4	80,18-91,05
	Rubeola	170	164	96,4	92,13-98,56
VOP, HB, PRS	Todos los virus simultáneamente	170	90	53,0	45,75-61,15

VOP, Vacuna oral de Polio; PRS; Vacuna contra Sarampión, Rubeola y Parotiditis; HB: Vacuna contra Hepatitis B

Ninguno de los niños estudiados fue serológicamente negativo a los 3 serotipos simultáneamente. El título promedio geométrico de anticuerpos para poliovirus tipo 1, 2 y 3, fue de 178, 120 y 56 respectivamente (Figura 1).

Se detectó presencia de anticuerpos contra el virus de la parotiditis en el 96,47% (IC 92,13-98,56) de los sueros. El 96,47 %, de las muestras resultaron positivas a anticuerpos contra Rubeola (IC 92,13-98,56). La presencia de anticuerpos contra sarampión se demostró en el 86,47 % (IC 80,18- 91,05) de las muestras. La respuesta serológica tipo IgG contra el virus de la hepatitis B fue positiva solamente en el 62,35 % (IC 54,47- 69,56) de las muestras. Es de destacar que 90 de los 170 niños involucrados en el estudio presentaron respuesta inmune positiva a los tres serotipos de la polio, virus de la parotiditis, sarampión, rubeola y hepatitis B simultáneamente (IC 45,75-61,15) (Tabla 2).

Figura 1. Valor del promedio geométrico de títulos de anticuerpos (TPG) a poliovirus 1, 2 y 3 en los sueros de niños de 5-9 años. Departamento del Quindío.2010



DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluaron las coberturas de las vacunas OPV, PRS y hepatitis B mediante la determinación de respuesta inmune humoral a los tres serotipos de poliovirus, virus del sarampión, parotiditis, rubeola y hepatitis B en población infantil del Departamento del Quindío, Colombia.

Durante los años que cubren la vacunación del grupo de edad del estudio, las cifras de coberturas se presentaron de manera fluctuante (Tabla 1). Referente a los años 2002 y 2003 se encontró que dicha cobertura disminuyó, al pasar de un 78,8 % a un 66,8 % entre el año 2000 y el 2003, respectiva-

mente. Es de anotar que años comprendidos entre 2002 y 2006 ha contado cada uno con campañas nacionales de vacunación, como una respuesta a situación mencionada de bajas coberturas en los años anteriores (2).

Los resultados demostraron en el presente estudio, que la respuesta inmune contra los tres serotipos de la polio fue superior con respecto a los porcentajes de coberturas vacúnales reportados. Esta diferencia se puede explicar por la inmunidad de rebaño que genera la vacuna de polio oral lo cual ha sido previamente descrito en la literatura (6).

Es de destacar que el título promedio geométrico para polio 3 fue menor en relación al de poliovirus 1 y 2. Estos resultados concuerdan con otros estudios serológicos desarrollados previamente en Brasil (7), Alemania (8), Estados Unidos (9), Italia (10), Bélgica (11), Grecia (12), Holanda (13), Sudáfrica (14), China (15) y Cuba (16) y sugieren que la inmunización con la vacuna trivalente de polio genera una respuesta inmune humoral menor para polio 3 con respecto a polio 1 y polio 2. En algunos niños los títulos de anticuerpos no se encontraron a niveles detectables. Sin embargo se ha demostrado que los mismos pudieran estar protegidos contra la poliomielitis debido a que la sensibilización inmunológica que produce la vacuna puede generar una respuesta inmune de memoria contra la infección aun cuando los niveles de anticuerpos no se encuentren a niveles detectables (17).

Mientras se mantenga la circulación de poliovirus salvaje en determinadas regiones del mundo existe el riesgo de importación de poliovirus salvaje. Los brotes de polio ocurridos en áreas libres de polio demuestran que cualquier país es vulnerable a la reintroducción de la circulación de poliovirus si existe una población no protegida contra la polio. Así mismo pueden ocurrir brotes de poliovirus derivado de la vacuna en poblaciones no inmunizadas (18). Los resultados del presente estudio indican que, aunque las coberturas administrativas en el Quindío estuvieron por debajo del 85% en algunos años, las mismas son protectoras para prevenir la circulación de poliovirus salvaje y poliovirus derivado de la vacuna.

Los niveles de anticuerpos detectados contra parotiditis y rubeola revelaron que la vacunación con SRP ofrece coberturas protectoras a para estos dos agentes virales. Por el contrario, los porcentajes de respuesta a sarampión fueron más bajos. La seroconversión de sarampión en la vacuna triple viral dada a los 12 meses generalmente oscila entre un 90 a 98 %. Sin embargo, algunos estudios han sugerido tasas sustancialmente menores en

algunas poblaciones (19). No se conoce con certeza si esta variabilidad está relacionada con la calidad de la vacuna en el momento en que se suministra o por diferencias en las respuestas del huésped (20).

Es significativo señalar que la menor seroprevalencia se encontró con la vacunación contra hepatitis B. La variabilidad de la respuesta a la vacuna de hepatitis B puede depender de las condiciones genéticas de los individuos (21). Sin embargo, no consideramos que este factor por si solo pueda explicar los bajos niveles de anticuerpos detectados con esta vacuna que se encuentra en el esquema actual de inmunización y debe estar disponible para todos los niños.

Aunque este estudio está limitado solo a un departamento de Colombia, los resultados sustentan la necesidad de realizar estudios de seroprevalencia a nivel nacional para determinar el nivel de protección en departamentos donde las coberturas de inmunización han disminuido y corroborar la correspondencia de tal protección con las coberturas administrativas. Estos estudios permitirán evaluar la vulnerabilidad de estas poblaciones a la infección por poliovirus, una medida de gran utilidad como paso previo para iniciar el cambio de la vacuna oral a la inactivada, prevenir eventos como el sarampión que pueden re emerger en poblaciones con baja respuesta inmunitaria y estimar si se necesita incrementar la vacunación con hepatitis B •

Agradecimientos: Al magister Luis Morier del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” por su trabajo y asesoría en el mantenimiento de las líneas de cultivo celular y al Biólogo Andrés Rodríguez por el apoyo técnico durante el desarrollo del proyecto. A los hospitales del Departamento del Quindío que facilitaron la recolección de las muestras. A la Vicerrectoría de investigaciones de la Universidad del Quindío por la financiación del proyecto 558 del cual resulto esta publicación.

Conflicto de Intereses: Ninguno.

REFERENCIAS

1. Ministerio de la Protección Social [Internet]. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/pai.aspx>. Consultado junio del 2013.
2. Reporte-Vacunacion-Sispro. [Internet]. Disponible en: <http://www.sispro.gov.co/Pages/Vacunacion/Reporte-Vacunacion.aspx>. Consultado abril del 2015.
3. WHO Department of Immunization Vaccines and Biologicals. Polio laboratory manual. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2004.
4. Lennette EH. General principles underlying laboratory diagnosis of viral and rickettsial infections. In: Lennette EH, Schmidt NJ, eds. Diagnostic procedures for viral and rickettsial infections. New York: American Public Health Association 1–63;1969

5. Sutter RW, Kew OM, Cochi SL, Aylward BA. Poliovirus vaccine - live. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, eds. *Vaccines*. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2012.
6. Duintjer Tebbens RJ, Pallansch MA, Chumakov KM, Halsey NA, Hovi T, Minor PD, et al. Expert review on poliovirus immunity and transmission. *Risk Anal.* 2013; 33:544-605.
7. Luchs A, Cilli A, Russo DH, Costa FF, Carmona R, Timenetsky C. Monitoring of poliovirus neutralizing antibodies in Sao Paulo State, Brazil. *Trans. R Soc Trop Med Hyg.* 2010; 104:625–627.
8. Diedrich S, Claus H, Schreier E. Immunity status against poliomyelitis in Germany: determination of cut-off values in international units. *BMC Infect Dis.* 2002; 2:2.
9. Bass JW, Halstead SB, Fischer GW, Podgore JK, Wiebe RA. Oral polio vaccine. Effect of booster vaccination one to 14 years after primary series. *JAMA* 1978; 239:2252–2255.
10. Mastroeni I, Patti AM, Fabrizi A, Santi AL, Manduca AM, Vescia N, et al. Immunity status against poliomyelitis in persons 13–14 years old living in Rome. *Vaccine* 1997; 15:747–750.
11. Lamy ME, Cornu C, Desmyter J. Poliovirus antibodies in age groups: an assessment of obligatory vaccination in Belgium. *Dev Biol Stand.* 1979; 43:207–213.
12. Frantzidou F, Diza E, Halkia D, Antoniadis A. A seroprevalence study of poliovirus antibody in the population of northern Greece. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11:68–71.
13. Conyn-Van Spaendonck MA, de Melker HE, Abbink F, Elzinga- Gholizadea N, Kimman TG, van Loon T. Immunity to poliomyelitis in The Netherlands. *Am J Epidemiol.* 2001; 153:207–214.
14. Schoub BD, Blackburn NK, McAnerney JM. Seroprevalence to polio in personnel at a virology institute. *J Infect.* 2001; 43:128–131.
15. Wang H, Cui H, Ding Z, Ba P, Zhu S, Wen N, et al. Seroprevalence of antipolio antibodies among children <15 years of age in border provinces in China. *Clin Vaccine Immunol.* 2013;20:1070-1075
16. Resik S, Tejada A, Mas P, Diaz M, Carmenates A, Sarmiento L, et al. Randomized Controlled Clinical Trial of Fractional Doses of Inactivated Poliovirus Vaccine Administered Intradermally by Needle-free Device. *J Infect Dis.* 2010;201:1344-1352.
17. Resik S, Tejada A, Sutter R, Diaz M, Sarmiento L, Alemañi N, et al. Priming following a fractional dose of inactivated poliovirus vaccine. *N Engl J Med.* 2013;368:416-424.
18. Grassly NC. The final stages of the global eradication of poliomyelitis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013;368:20120140
19. Gomber S, Arora SK, Das S, Ramachandran VG. Immune response to second dose of MMR vaccine in Indian children. *Indian J Med Res.* 2011;134:302-306.
20. Haralambieva IH, Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Kennedy RB, Jacobson RM, Poland GA. The genetic basis for interindividual immune response variation to measles vaccine: new understanding and new vaccine approaches. *Expert Rev Vaccines.* 2013;12:57-70
21. Hennig BJ, Fielding K, Broxholme J, Diatta M, Mendy M, Moore C, et al. Host genetic factors and vaccine-induced immunity to hepatitis B virus infection. Genetic Polymorphism in Immune Response to Hepatitis B Vaccination in Two Independent Chinese Populations. *PLoS One.* 2008; 26:e1898.