

# Estudio de Inmunogenicidad contra 6 Serotipos de la Vacuna Antineumocócica de Polisacáridos, en Adultos Uruguayos a partir de los 50 Años de Edad

Ramón Alvarez<sup>1</sup>, Hugo Dibarboure<sup>2</sup>, Alejandro Chabalgoty<sup>3</sup>, Analía Rial<sup>3</sup>, Andrés Velázquez<sup>4</sup>

1.Instituto de Estadística, Facultad de Ciencias Económicas, UDELAR. 2.Laboratorios Clausen, Montevideo. 3.Departamento de Vacunas, Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UDELAR. 4.Policlínica Arbolito, Atención Primaria de Salud, La Teja, Montevideo.

**Palabras claves:** Ensayo Clínico, Títulos Medio Geométricos, seroconversión, métodos CART. Correo electrónico de contacto: ramon@iesta.edu.uy (Prof. Adj. Ramón Alvarez)

## RESUMEN

En Uruguay se dispone de la Vacuna Ant-neumocócica de Polisacáridos (VPP), que contiene 23 serotipos de más de 90 reconocidos de la bacteria, responsables de más del 92% de las infecciones invasivas que provocan en nuestro país. La VPP se recomienda a personas >65 años y entre 2 y 64 años con factores de riesgo. Realizamos un Ensayo Clínico para evaluar el conteo de anticuerpos antes y 30 días después de la vacunación contra 6 serotipos en dos poblaciones, >65 años y entre 50 y 64 años. Los Títulos Medio Geométricos se estimaron mediante aproximación para una distribución lognormal y método exacto de Land. Se analizó el patrón combinado de seroconversión y seroprotección mediante CART y técnicas de partición binaria

## ANTECEDENTES

- El *S.pneumonia* es una bacteria responsable de infecciones invasivas (graves) en personas en los extremos de la vida, grupos de riesgo y ocasionalmente sin una razón aparente, pero los grupos de mayores de 50 años son los más vulnerables.
- Un número limitado de serotipos son los responsables y más del 90% de ellos están contenidos en la Vacuna neumocócica de polisacáridos (VPP). La respuesta de anticuerpos (Ac) específicos se puede estimar por pruebas ELISA en el suero. Los Ensayos Clínicos son el mejor diseño para evaluar el conteo de Ac a través de los Títulos Medio Geométricos (TMG) antes y 30 días después de la vacunación.
- Se plantea que la respuesta en los ≥65 años puede ser menor que en los menores de esa edad, a la vez que las enfermedades crónicas en las que la vacuna está recomendada tienen mayor incidencia a partir de los 50 años de edad.
- En Uruguay no existían datos sobre la respuesta inmunogénica a la VPP, justificó el estudio, cuyo objetivo fue evaluar la respuesta inmunológica a la vacuna en personas >50 años contra 6 serotipos y la inmunogenicidad a través de la seroconversión para cada uno de los 6 serotipos y compararla entre los 2 grupos: 50-64 y ≥65 años de edad.

## RESULTADOS

## METODOLOGÍA

- Diseño: ECA fase IV, simple ciego (observador).
- Población y Centro: usuarios de la policlínica de atención Primaria, Arbolito. La técnica ELISA se realizó en el Laboratorio del Departamento de vacunas de la Facultad de Medicina.
- Participaron los que cumplieron los criterios de inclusión-exclusión.

## ANÁLISIS DE LOS DATOS:

**TMG:** para cada uno de los 6 serotipos se midió la cantidad de Ac en la toma basal (TB) y a los 30 días (T30d) para en cada toma realizar el conteo de los TMG. La estimación de TMG es un mejor estimador para el promedio cuando el parámetro (conteo de elementos en suero) tiene fuerte asimetría. Esa característica hace necesaria una transformación de los datos en busca de un comportamiento gaussiano mediante el logaritmo neperiano. De esta manera se facilita el cálculo de sus intervalos de confianza (IC) y las pruebas de hipótesis. Además permite establecer la magnitud de crecimiento del conteo entre la TB y la T30d, mediante las tasas de crecimiento en términos de ratios, que aplicado su transformación logarítmica (logaritmos de ratios), logra tener distribuciones más simétricas y aproximación gaussiana. (Figura 1).

**Seroprotección:** se considera seroprotección todo conteo de Ac que supera un punto de corte (PC) en este caso, el valor fue 1,3µg/l para cada serotipo. Se contabiliza que porcentaje de pacientes superaron el PC y se constituyó un indicador global definiendo como seroprotegidos a aquellos que superaban el PC en 4 o más de los 6 serotipos analizados.

**Seroconversión:** Se definió como el aumento en 4 veces los títulos a los 30 días respecto a los basales como forma de medir la respuesta inmunogénica. Se utiliza el siguiente algoritmo:

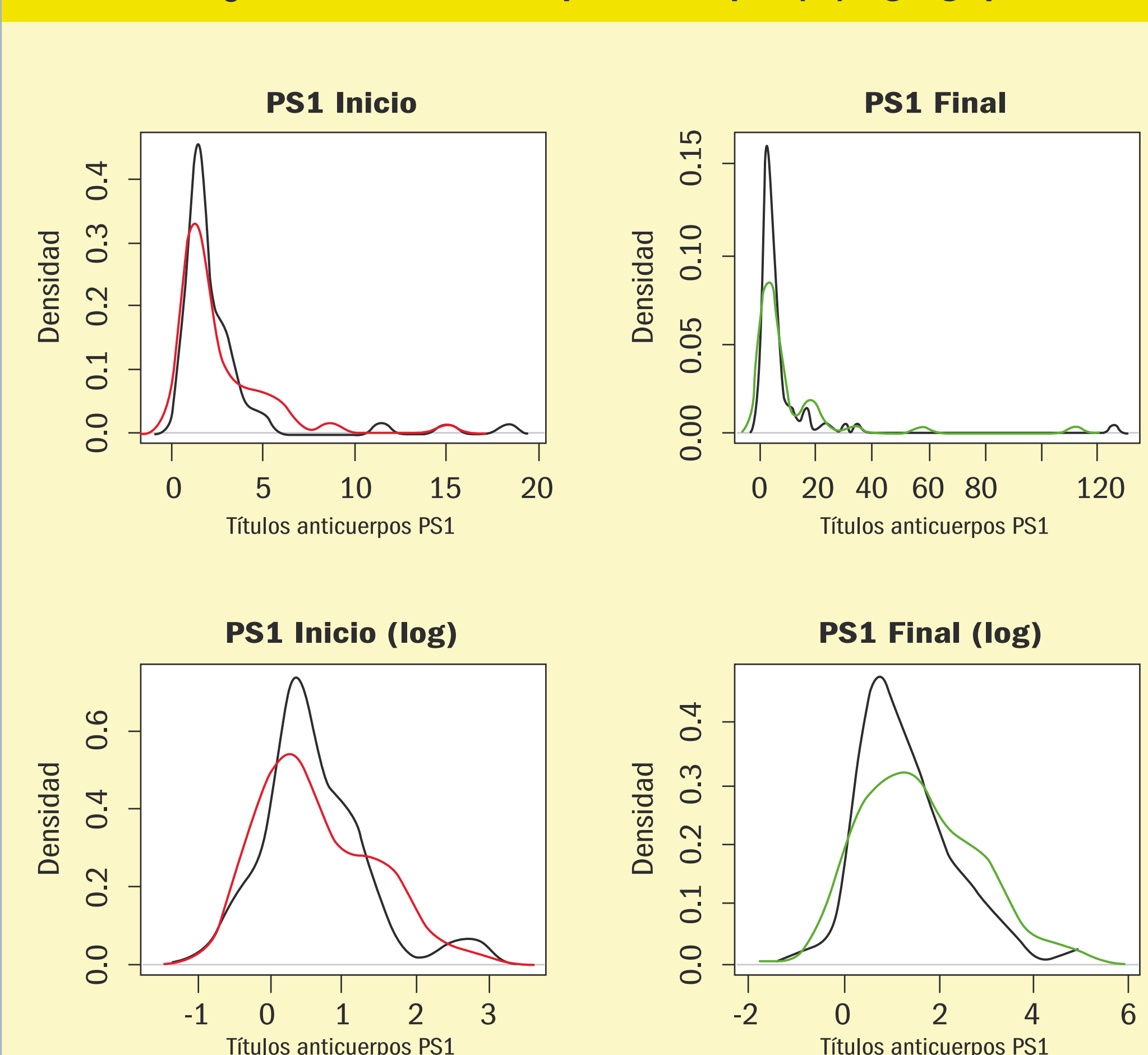
Para un serotipo tenemos

- $Sd0_i$  y  $Sd30_i$  donde el  $i = 1,2,3,4,5,6$  y  $j=1,2$  al tener 6 serotipos y 2 grupos.
- Hacemos el ratio  $RS_i = \frac{Sd30_i}{Sd0_i}$  y establecemos el criterio de seroconversión, el PC = 4  $Sd0_i$

Si tenemos en cuenta que interesa discriminar si el ratio de seroconversión es diferente entre grupos de pacientes (que se controla con el supra-índice j) es equivalente a considerar un punto de corte del logaritmo del ratio de aumento de 1,38.

Luego de conocer los pacientes que se seroconvierten por serotipo y por Grupo, interesa ver como es que se produce el cambio en relación a los 6 serotipos utilizando la construcción de árboles de clasificación (CART).

Figura 1. Conteo de Anticuerpos de Serotipo 1 (S1) según grupo



Cuadro 1. Seroprotección: Respecto al algoritmo se puede ver si la variación de Títulos de Ac (VTA) a los 30 días es diferencial en la muestra. Para el Serotipo 1 (S1) en la vacuna el 91% de los pacientes alcanzan el PC a los 30 días

N	Mínimo	Media	Mediana	Máximo	DE	Coef. de Asimetría	Valor de Corte (1,3) PC Td30	Grupo respuesta
102	0,41	9,01	3,5	125,33	17,9	4,97	8,8 91,2 100	3

Cuadro 2. Seroprotección: Respuesta por serotipo del PC a los 30 días, según el Grupo

PC S1 d30	Grupo de Paciente	Total	Prueba x2	
No	G1 13,3%	5,3%	8,8%	.154
Si	86,7%	94,7%	91,2%	

## Prueba de Hipótesis: Tests robustos para presentar normalidad enfocados en la simetría y curtosis, implementados en la librería tep de R, basados en PET (Procesos Empíricos Transformados).

Ref. A. Cabaña and E.M. Cabaña. Test of Normality Based on Transformed Empirical Processes, Methodology and Computing in Applied Probability, 5 (2003), 309-335.

Cuadro 3. Pruebas de curtosis para Grupo 1 y 2 (variables en logaritmos)

Serotipo	Kskurt. G1	Kskurt. G2	Cvmkurt. G1	Cvmkurt. G1
Log (PS1)_D0	0,33	0,01	0,45	0,01
Log (PS1)_D30	0,58	0,03	0,75	0,02

Cuadro 4. Pruebas de simetría para Grupo 1 y 2 (variables en logaritmos)

Serotipo	Kskurt. G1	Kskurt. G2	Cvmkurt. G1	Cvmkurt. G1
Log (PS1)_D0	0,06	0,00	0,05	0,00
Log (PS1)_D30	0,11	0,01	0,10	0,00

Kskurt	Test de KS (Kolmogorov-Smirnov) para simetría	Ksim	Test de KS (Kolmogorov-Smirnov) para simetría
Cvmkurt. <td>Test de para curtosis basado en PET</td> <td>Cvmsim</td> <td>Test de simetría basado en PET</td>	Test de para curtosis basado en PET	Cvmsim	Test de simetría basado en PET

## Prueba de Hipótesis: Pruebas de diferencias de medias teniendo en cuenta datos pareados. Para las estimaciones puntuales de TMG y su IC lo mejor es hablar de diferencias entre los logaritmos del CA por serotipo.

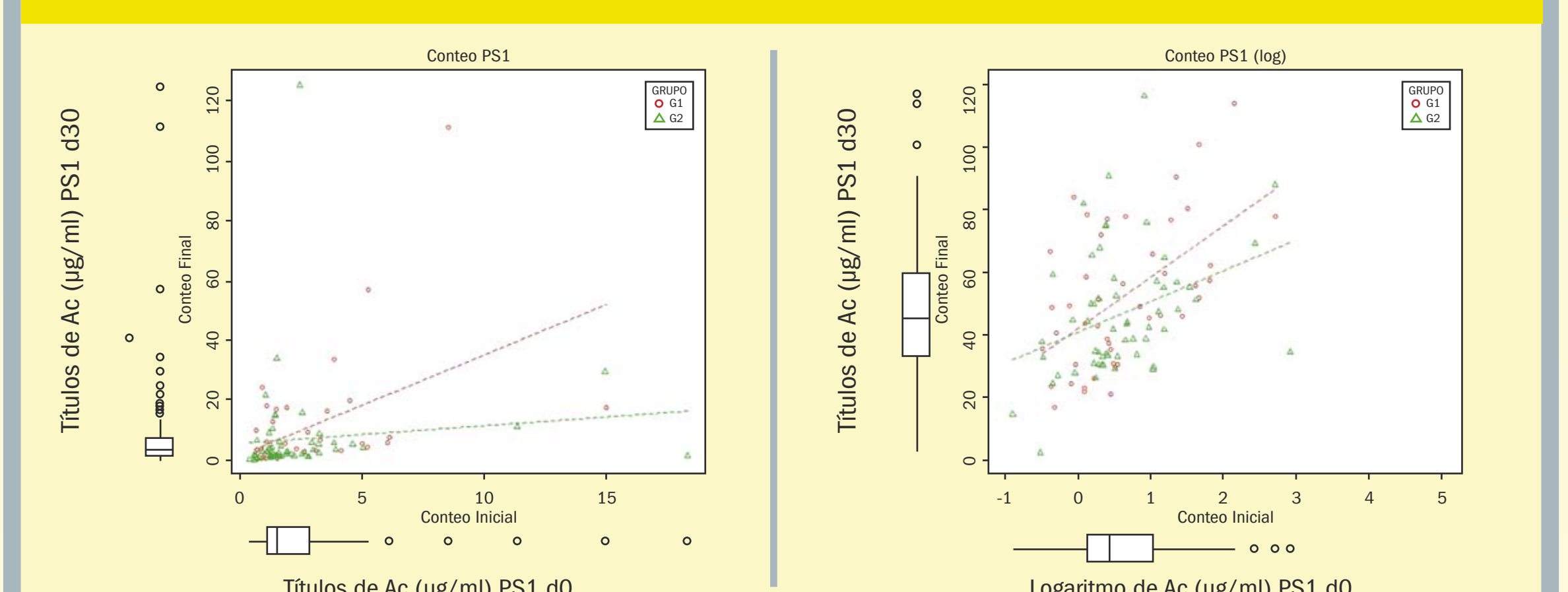
Cuadro 5. Prueba t para diferencias de conteo para log(S1 (30d) entre G1 y G2

Diferencia Media	gl	t	Sig. (2 colas)
0,29	100	1,34	0,18

Cuadro 6. Pruebas de Hipótesis No paramétricas log(S1 (30d)) diferencias de conteo entre G1 y G2

Test Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Sig. (2 colas)
1099	2752	-1,24	0,22

Figura 2. La respuesta individual permite ver la dinámica en la variación a los 30 días entre TB y T30d. Esa variación individual se analiza como seroconversión. Vemos también, como queda la variación de Títulos de S1, en logaritmos.



## Patrón de Seroconversión Global: Seroconvierten 4 o más de los 6 serotipos

Arbol de Clasificación (Hothorn, Hornik y Zeileis-2006) con librería party. Se usan árboles de inferencia condicional a través de los cuales se estiman mediante particiones binarias recursivas modelos de regresión, donde en cada paso se prueba la hipótesis de independencia entre las variables de entrada y la de respuesta, usándose como criterio de parada.

Por otro lado se estiman modelos logit entre las mismas variables explicativas de los árboles de clasificación creados con party y se comparan los resultados

```
neumo.party5 <-  
ctree(serocong1~PS1_RAT  
+PS4_RAT+PS5_RAT+PS6B_RAT  
+PS14_RA  
+PS23F_RA)
```

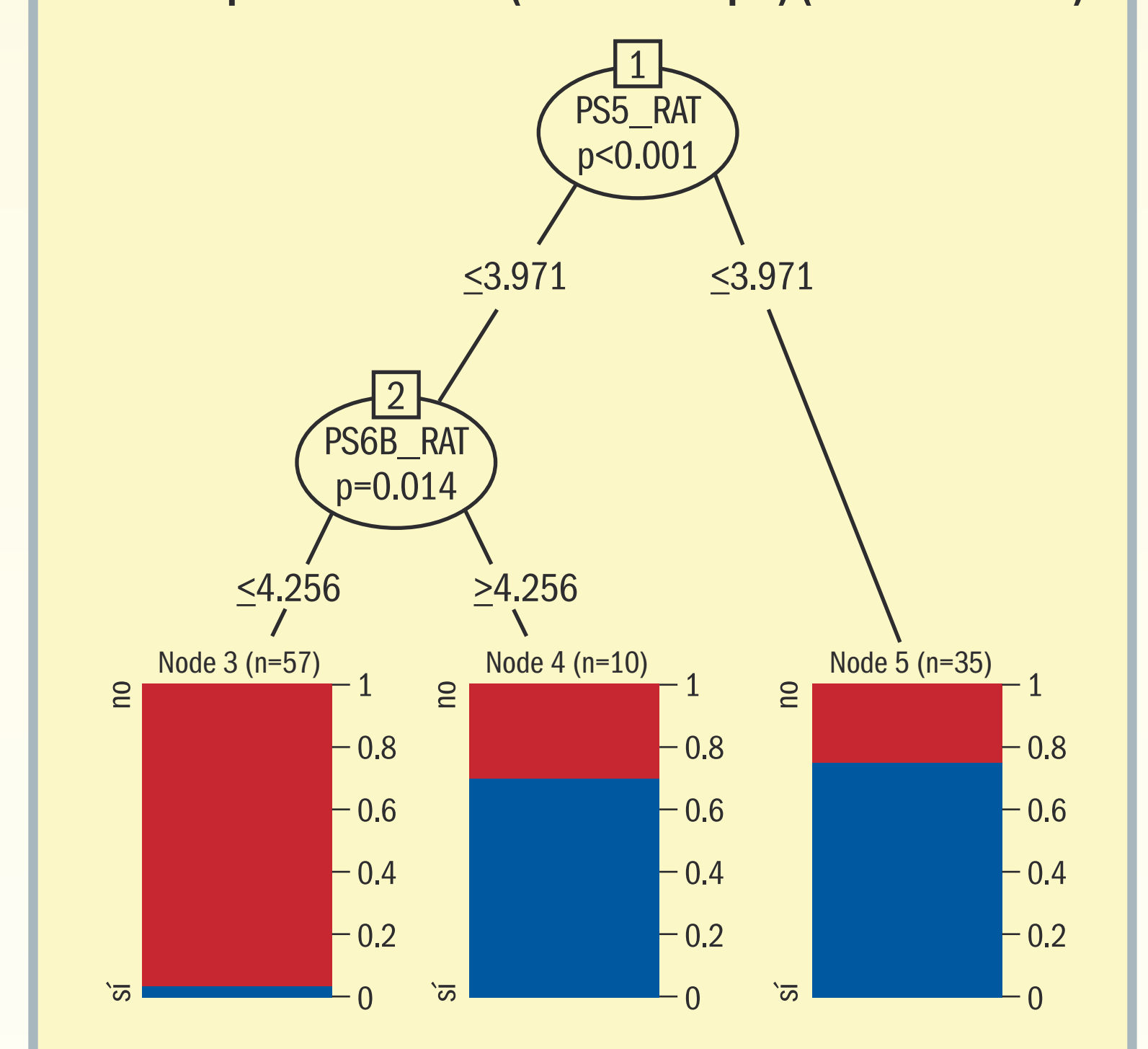
Observado			
Modelo (Arbol)	No	Sí	Total
No	55	2	57
Sí	12	33	45
Total	67	35	102

Observado			
Modelo (logit)	No	Sí	Total
No	60	13	57
Sí	7	22	45
Total	67	35	102

## Modelo Logit Nro.5

```
GLM.5 <- glm(serocong1~GRUPO + PS1_RAT  
+PS4_RAT+PS5_RAT+PS6B_RAT  
+PS14_RA  
T+PS23F_RA  
family=binomial(logit), data=datos.neumo)
```

Pacientes que Seroconvierten (4 o más serotipos) (Ratios de Conteos)



	Estimate	Std. Error	z value	Pr(>  z )
(Intercept)	-3,420	0,91	-3,75	0,000
GRUPO [T,G2]	-0,583	0,55	-1,07	0,286
log (PS1\_D30)	0,502	0,28	1,82	0,069
log (PS4\_D30)	-0,213	0,28	-0,76	0,449
log (PS5\_D30)	0,569	0,28	2,01	0,044

## Bibliografía

- Wang H, Chow S, Shao J. Sample Size Calculations in Clinical Research. Marcel Dekker Inc, 2003. 2. W J Conover. Practical Nonparametric Statistics. John Wiley & Sons, 1980. 3. Middleton B, Duval B, Decumnick G. Seroprotection rates after late doses of hepatitis B vaccine. Pediatrics, 109:350-351, 2002. doi: DOI: 10.1542/peds.109.2.350. URL: http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/109/2/350. 4. Steven P Millard and Nagaraj K. Neerchal. Environmental Statistics. CRC Press, 2001. 5. K M Neuzil. Immunization with trivalent inactivated influenza vaccine in partially immunized toddlers. Pediatrics, 118:579-585, 2006. doi: DOI: 10.1542/peds.2006-0201. URL: http://www.pediatrics.org/cgi/content/full/118/3/e579. 6. R F I Ochoa. Reactogenicidad e inmunogenicidad de una nueva vacuna de toxoide tetánico y diftérico con concentración reducida en adolescentes cubanos. VaccaMonitor, Año 15 No. 2:13-17, 2006. Instituto Finlay. 7. Fernanda Silveira and Flores Vogel. Magnitude duration and specificity of the serological response in cattle vaccinated against bovine viral diarrhoea virus (bvdi). Ciencia Rural, v.32 n.1:p.83-89, 2002.