

## **JUSTIFICACION Y OBJETIVOS**

Los pacientes afectados de infección por VIH presentan una marcada alteración de los mecanismos de inmunidad celular, concretamente a nivel de los linfocitos T CD4+. Dado el papel inmunorregulador que ejercen estos linfocitos en todas las reacciones inmunológicas, era lógico suponer que también se produjeran alteraciones a nivel de la inmunidad humoral. Pronto empezaron a aparecer publicaciones que demostraban una incidencia aumentada de neumonía neumocócica en estos pacientes<sup>188,201,204,208,211</sup>.

Debido a esta mayor susceptibilidad a padecer neumonías bacterianas, muy especialmente neumocócicas, en los pacientes con infección por VIH, se hizo necesario el intentar su profilaxis mediante la administración de la vacuna neumocócica.

Los primeros resultados en relación con la efectividad de una inmunización activa frente a *S. pneumoniae* fueron poco alentadores en pacientes con infección por VIH. Si bien los primeros estudios sugerían que la vacuna neumocócica no sería muy eficaz en los pacientes que ya habían desarrollado SIDA, los datos existentes en la actualidad referentes a la vacunación en pacientes que se encuentran en estadios más precoces de la infección por VIH son más optimistas.

En definitiva, aunque actualmente diferentes sociedades y organismos recomiendan la vacuna neumocócica a todos los pacientes con infección por VIH<sup>30,253,254</sup>, independientemente del estadio de su enfermedad, no todos los autores están de acuerdo con ello. Lo que sí parece claro es que cuanto más precozmente se administre la vacuna, mayores probabilidades tiene de provocar una respuesta efectiva.

Dado que hasta la fecha son muy escasos los estudios que valoren la respuesta serológica a la vacunación en estos pacientes a largo plazo y con resultados discordantes, y que, por otra parte, faltan estudios que describan la evolución clínica de los pacientes vacunados, hemos creído de interés diseñar un

estudio prospectivo clínico y de valoración de la producción de inmunoglobulinas específicas frente a *S. pneumoniae* en pacientes con infección por VIH a largo plazo con los siguientes objetivos:

1. Comparar la magnitud de la respuesta serológica frente a la vacuna neumocócica entre un grupo de pacientes con infección por VIH y un grupo control de sujetos sanos.
2. Evaluar la persistencia de anticuerpos específicos frente a *S. pneumoniae* a lo largo del tiempo (3 años) en los pacientes con infección por VIH.
3. Valorar la aparición de infecciones neumocócicas en los pacientes vacunados con infección por el VIH tras un seguimiento de 5 años.

## **PACIENTES, MATERIAL Y METODOS**

### 3.1. Sujetos del estudio. Criterios de inclusión.

El grupo de estudio lo constituyeron 60 pacientes con infección por VIH provenientes de la consulta ambulatoria de los Servicios de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas del Hospital General Vall d'Hebron de Barcelona.

Los criterios que debían cumplir todos los pacientes para ser incluidos en el estudio fueron:

1. Un valor de linfocitos T CD4+ superior a 200 elementos/ml determinado 1 mes antes de la inclusión en el estudio.
2. En ningún caso se recogía el antecedente de infección oportunista previa a la inclusión en el estudio.
3. Ningún paciente había sido vacunado previamente frente a *S. pneumoniae*.
4. Ningún paciente tenía antecedentes o ingresos previos por una infección neumocócica.

En total se incluyeron 38 varones y 22 mujeres con una edad media de  $30,7 \pm 8,4$  años (rango: 15 - 67 años).

El grupo constituido por pacientes con infección por VIH se hallaba incluido dentro de aquéllos en los que está indicada la vacunación neumocócica según recomendación del CDC (Centers of Diseases Control, Atlanta, USA)<sup>30</sup> y del protocolo del Servicio de Medicina Preventiva de nuestro hospital según se expresa en la tabla 6.

Para poder comparar la respuesta serológica a la vacuna neumocócica se estableció un grupo control constituido por 39 individuos sanos reclutados entre el personal sanitario de nuestro hospital. Se trataba de 20 varones y 19 mujeres con una edad media de  $29,4 \pm 5,3$  años (rango: 21 - 48 años).

Este grupo de personas cumplían los siguientes requisitos:

1. No habían recibido previamente la vacuna neumocócica.
2. Se había descartado por historia clínica, analítica general y radiografía de tórax que tuvieran ninguna enfermedad que cursara con inmunodepresión o que tomaran tratamientos con fármacos inmunosupresores incluidos corticoides.
3. Serología frente al VIH negativa.

Este grupo control fue reunido y estudiado por los Drs. Miravittles y de Gracia del Servicio de Neumología y por las Dras. Rodrigo y Cruz del Servicio de Bioquímica de nuestro Centro. Es el mismo grupo control que se utilizó en la tesis doctoral del Dr. Marc Miravittles con el que se estandarizó la técnica de determinación de anticuerpos antineumocócicos<sup>255</sup>.

### **3.2. Diseño del estudio.**

La cronología seguida para la realización del estudio fue la siguiente:

1. Durante el período comprendido entre diciembre de 1992 y diciembre de 1993 se seleccionaron a los pacientes que constituyeron el grupo de estudio.
2. De cada paciente se obtuvieron datos epidemiológicos, clínicos y analíticos que se recogieron en un protocolo previamente establecido (anexo 1, pag. 68).
3. A todos los pacientes se les extrajo una muestra de sangre, antes de la vacunación, para la determinación de:
  - Anticuerpos específicos IgG frente a *S. pneumoniae*.
  - Dosificación de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM).
  - Determinación de las subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)
4. A continuación se les administró la vacuna neumocócica polisacárida 23-valente (Pnu-inmune<sup>®</sup>, Lederle Laboratories) que contiene 25 µg de cada tipo de polisacárido capsular. La vacuna se administró por vía intramuscular en el deltoides.

5. Se extrajeron muestras de sangre para la determinación de anticuerpos IgG totales frente a *S. pneumoniae* al mes (a los 60 pacientes), a los seis meses (42 pacientes) y a los treinta y seis meses (26 pacientes).
6. Las muestras de sangre fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos; posteriormente se obtuvieron alícuotas del suero que se almacenaron en un congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se completó el estudio y se realizaron las determinaciones de laboratorio.
7. El seguimiento clínico del grupo de estudio se realizó a través de la historia clínica proveniente de la consulta ambulatoria durante 5 años. Se recogieron datos acerca de:
  - Estadío de la infección por VIH en función de la aparición de enfermedades diagnósticas de SIDA.
  - Cifras de linfocitos T CD4+.
  - Aparición de infecciones neumocócicas no respiratorias y neumonías.
  - En caso de detectarse la aparición de neumonía durante el seguimiento se recogían otros datos como: tiempo transcurrido desde la vacunación, resultados de los hemocultivos y cultivos de esputo, días de ingreso, severidad del episodio valorado mediante la necesidad de ingreso en UCI, la presencia de insuficiencia respiratoria o exitus relacionado con la neumonía y el estado inmunológico del paciente.
  - En caso de aparecer un episodio de infección neumocócica no respiratoria se recogían datos referentes a tiempo pasado desde la vacunación, tipo de infección y lugar de aislamiento de la muestra, días de ingreso y la valoración de la severidad y estado inmunológico como en los casos de neumonía.
8. A los sujetos del grupo control se les extrajo una muestra de sangre antes de la vacunación y una nueva muestra al mes de la vacunación.

### 3.3. Técnica de laboratorio.

La IgG específica total para *S. pneumoniae* se determinó mediante un método de ELISA modificado. La técnica se ha estandarizado en el laboratorio de bioquímica de nuestro centro por la Dra. Rodrigo y cols<sup>255</sup>.

En resumen la técnica de determinación de IgG total específica antineumocócica consiste en:

1. Acoplamiento a los pocillos de la placa de microtitulación de alta afinidad (Costar, Cambridge, Mass, USA) de 10 µg de vacuna en tampón carbonato-bicarbonato 0,2 M (pH 9,6) durante 16 horas a 4°C.
2. Posteriormente se lavan en dos ocasiones con fosfato tamponado salino 0,1 M (pH 7,5) 0,005% Tween 20 (Sigma Chemical Co., San Luis, USA) y se bloquean con fosfato tamponado salino 1% seroalbúmina bovina (Sigma Chemical Co., San Luis, USA) durante 1 hora a 37°C.
3. Tras 4 lavados, las placas se incuban durante 2 horas a 37°C con muestras duplicadas de suero a la dilución apropiada y la curva estándar.
4. En el siguiente paso las placas se incuban con anti-IgG humana marcada con peroxidasa de rábano (clon MH16-1ME, 0,5 µg/ml) durante 2 horas a 37°C.
5. Finalmente, la reacción se desarrolla con 3,3',5,5'-tetrametilbencidina, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, durante 20 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad.
6. La reacción se detiene con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M y las placas se leen a 450 nm (Titertek Multiskan Plus MKII).

Los resultados se expresan como unidades arbitrarias tras usar como referencia un suero que contiene 2240 U/ml calibradas frente a una preparación neumocócica de referencia marcada con PN-A con un valor asignado de 70 U/ml de IgG antineumocócica del European Quality Scheme para anticuerpos específicos (Oxfordshire Health Authority, John Radcliffe Hospital, Oxford, Reino Unido). Este suero ha sido amablemente cedido por la Dra. N. Matamoros (Hospital Son Dureta,



Palma de Mallorca). Los coeficientes de variación dentro del mismo día y de un día para otro fueron obtenidos tras realizar 40 tests seguidos y después de analizar el mismo suero en 20 ocasiones, respectivamente. Sus valores fueron de 6,5% y 10,5%.

Se definió una respuesta adecuada serológica según los criterios ya publicados<sup>255</sup>. Para ello se calculó el 90% del intervalo de confianza (una cola) de los títulos de IgG total antineumocócica en una población sana tras ser vacunados con la vacuna polisacárida 23-valente. El límite inferior del intervalo de confianza fue de 395 U/ml. Este valor es el incremento mínimo significativo y define al respondedor como aquel individuo en el cual su título de anticuerpos se eleva por encima de este valor.

Se consideró respondedor al paciente que desarrolló una respuesta serológica adecuada a las 4 semanas de la inmunización.

### **3.4. Variables del estudio**

Los parámetros que se valoraron fueron:

1. Clínicos como la aparición de neumonías u otras infecciones neumocócicas no respiratorias.
2. Analíticos:
  - Dosificación de inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM).
  - Determinación de las subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4)
  - Determinación de linfocitos T CD4+ previo y a los 6 meses de la vacunación.
  - Determinación de niveles de IgG específica frente a *S. pneumoniae* antes, al mes, seis y treinta y seis meses después de la vacunación.

### 3.5. Estudio estadístico

El cálculo del tamaño de la muestra de pacientes se realizó mediante una estimación obtenida teniendo en cuenta la incidencia de infección neumocócica en este grupo de pacientes y al considerar un porcentaje de inmunogenicidad de la vacuna neumocócica del 45% en pacientes con infección por VIH y del 75% en el grupo control. La eficacia de la vacuna en el grupo control se ha obtenido a partir de estudios realizados previamente<sup>90</sup>. Esta estimación se realizó para un nivel de confianza del 95% y un poder estadístico del estudio del 80%.

El análisis de datos clínicos y serológicos se realizó mediante unos protocolos informatizados diseñados con el programa SPSS.

Los datos se presentan como medias  $\pm$  desviación estándar, medianas, rangos o proporciones según es apropiado.

Los test de chi-cuadrado o exacto de Fisher se usaron para comparar variables categóricas entre grupos.

Para comparar las variables continuas entre casos y controles utilizamos el test de Mann Whitney dado que las variables no seguían una distribución normal.

Las diferencias entre los títulos de anticuerpos antes y después de la vacunación fueron analizados mediante el test de Wilcoxon.

Para valorar aquellas variables que se asociaron de modo independiente a la inmunogenicidad de la vacuna se realizó un estudio de regresión logística múltiple tras realizar un ajuste según sexo, edad, nivel de linfocitos T CD4+ y título previo de anticuerpos específicos frente a *S. pneumoniae*.

Los valores de probabilidad iguales o inferiores a 0,05 fueron considerados como indicadores de significación estadística.



Episodios de neumonía

	Episodio 1	Episodio 2	Episodio 3
Tiempo desde vacunación (meses)			
Hemocultivos			
Cultivo de esputo			
Agente causal			
Días ingreso			
UCI			
Insuficiencia respiratoria			
Shock			
Exitus relacionado			
CD4			
Carga viral			
Estadiaje			

Infección neumocócica no neumonía

	Episodio 1	Episodio 2	Episodio 3
Tiempo desde vacunación (meses)			
Tipo de infección			
Lugar aislamiento muestra			
Días ingreso			
UCI			
Exitus relacionado			
CD4			
Carga viral			
Estadiaje			

*Código muestras: 1.- Hemocultivo, 2.- Espudo, 3.- LCR, 4.- Sinovial, 5.- Otros.*

Seguimiento serológico

	Semanas	Valor
CD4-6		
Anticuerpos previos		
4 semanas		
6 meses		
3 años		

## **RESULTADOS**

#### 4.1. Descripción de los pacientes con infección por VIH

Este grupo lo formaron 60 pacientes que acudían a Consultas Externas de nuestro hospital.

El grupo estaba comprendido por 38 varones y 22 mujeres con una edad media de  $30,7 \pm 8,4$  años (rango 15-67).

En todos los casos se trataba de pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ superior a 200 elementos/ml (mediana de 405 con un rango de 210 a 1248). Ninguno de estos pacientes habían presentado previamente infecciones oportunistas.

Los factores de riesgo para la infección por VIH fueron: adictos a drogas por vía parenteral (ADVP) en 30 pacientes (50%), heterosexuales en 16 (27%), homosexuales en 13 (22%) y desconocido en un caso.

En el momento de la inclusión en el estudio todavía no se había implementado la terapia antirretroviral con múltiples fármacos. De todas formas, respecto al tratamiento antirretroviral la situación de nuestros pacientes era la siguiente antes de la inclusión en el estudio:

- administración de zidovudina en 31 de los 60 pacientes (51,6%) durante una media de 51,7 semanas,
- 2 pacientes (3,2%) recibían didanosina y,
- 27 (45,2%) no recibían terapia antirretroviral.

En la tabla 7 quedan resumidos los datos demográficos y epidemiológicos tanto de los pacientes con infección por VIH como los del grupo control.

Tabla 7. Datos demográficos y epidemiológicos.

		Pacientes con infección por VIH (n=60)	Grupo control (n=39)
Edad		30,7 ± 8,4 años	29,4 ± 5,3 años
Sexo	Varones	38	20
	Mujeres	22	19
Factores de riesgo para la infección por VIH	ADVP	30 (50%)	
	Heterosexual	16 (27%)	
	Homosexual	13 (22%)	
	Desconocido	1	
Tratamiento antirretroviral	Zidovudina	31 (51,6%)	
	Didanosina	2 (3,2%)	
	No tratamiento	27 (45,2%)	

A destacar de estos datos:

1. A pesar de que el sexo masculino es más frecuente entre los pacientes con infección por VIH no hay diferencias significativas entre ambos grupos ( $p=0,165$ ).
2. El factor de riesgo más frecuente implicado en la adquisición de la infección por VIH fue la adicción de drogas por vía parenteral.
3. Hasta el 45,2% de los pacientes con infección por VIH no recibían tratamiento antirretroviral.

#### 4.2. Valoración de la respuesta serológica a la vacuna a las 4 semanas

##### 4.2.1. Comparación de la respuesta entre población en estudio y grupo control.

En las tablas 8 y 9 se recogen los valores de la IgG específica antineumocócica antes de la vacunación (título basal) y a las 4 semanas tanto del grupo control (tabla 8) como de los pacientes con infección por VIH (tabla 9).



Tabla 8. IgG específica antineumocócica en U/ml en el grupo control.

	Título basal	Título a las 4 semanas	Incremento
1	1000	1700	1.70
2	750	4250	5.66
3	400	700	1.75
4	350	1150	3.28
5	700	700	1.00
6	400	1100	2.75
7	1300	900	1.44
8	900	1150	1.27
9	1000	1250	1.25
10	300	900	3.00
11	400	1700	4.25
12	1300	2700	2.07
13	1150	9250	8.04
14	600	1100	1.83
15	1650	3200	1.93
16	200	1350	6.75
17	250	850	3.40
18	650	1350	2.07
19	150	1150	7.66
20	300	5200	17.33
21	800	2600	3.25
22	1050	2000	1.90
23	1750	8200	4.68
24	400	1650	4.12
25	550	6600	12.00
26	1300	8000	6.15
27	800	5100	6.37
28	200	1050	5.25
29	500	2000	4.00
30	650	3000	4.61
31	200	300	1.5
32	200	150	0.75
33	150	600	4.00
34	250	2050	8.20
35	200	2250	11.25
36	300	1500	5.00
37	200	800	4.00
38	1100	3500	3.18
39	800	2660	3.32

Tabla 9. IgG específica antineumocócica en U/ml en los pacientes con infección por VIH.

	Título basal	Título a las 4 semanas	Incremento	Título a los 6 meses	Título a los 3 años
1	255	205	0.80	200	-
2	330	1500	4.50	630	211
3	800	3300	4.12	2400	1279
4	270	540	2.00	520	-
5	1044	1190	1.13	810	701
6	1900	2300	1.21	3700	4376
7	3400	3300	0.97	-	2806
8	94	115	1.22	-	170
9	760	2520	3.31	1600	-
10	330	1140	3.40	840	-
11	528	910	1.72	-	-
12	132	1422	10.77	280	196
13	598	790	1.32	-	-
14	580	590	1.02	240	-
15	178	888	4.99	-	337
16	920	1120	1.21	520	1124
17	180	414	2.30	-	-
18	560	1360	2.42	1080	-
19	390	615	1.60	330	-
20	150	296	1.97	252	-
21	104	177	1.70	94	67
22	674	906	1.34	740	-
23	1160	2700	2.32	1830	-
24	636	1960	3.08	1040	393
25	5054	4543	0.90	5187	-
26	676	638	0.94	-	1097
27	334	826	2.47	150	128
28	258	315	1.22	675	366
29	380	368	0.97	368	-
30	72	163	2.26	-	-
31	494	704	1.42	572	-
32	163	361	2.21	-	136
33	264	217	0.82	288	-
34	1200	1143	0.95	-	3175
35	274	440	1.60	346	163
36	416	508	1.22	344	855
37	120	888	7.40	312	-
38	460	1200	2.60	618	110
39	60	126	2.10	-	68

40	460	712	1.54	624	-
41	790	1202	1.52	1104	-
42	552	544	0.98	612	756
43	152	848	5.57	492	-
44	1012	2896	2.86	2840	-
45	146	360	2.46	234	213
46	80	234	2.92	172	139
47	39	164	4.20	-	-
48	290	320	1.10	252	-
49	104	160	1.53	110	122
50	648	756	1.16	1200	637
51	206	280	1.35	-	-
52	1456	2000	1.37	1698	-
53	714	600	0.84	704	-
54	364	368	1.01	-	-
55	714	616	0.86	570	1340
56	97	62	0.64	-	-
57	200	424	2.12	68	-
58	49	261	5.32	-	-
59	502	609	1.21	-	-
60	468	1146	2.45	-	-

En el grupo control la mediana del título basal fue de 550 U/ml con un rango de 150 a 1750 U/ml.

En los pacientes con infección por VIH la mediana del título basal fue de 385 U/ml con un rango de 39 a 5054 U/ml.

La comparación entre los títulos basales de ambos grupos no mostró diferencias significativas ( $p=0.07$ ).

A las 4 semanas de la vacunación la mediana en el título de IgG específica antineumocócica fue 1650 U/ml (rango: 150-9250 U/ml) en el grupo control mientras en los pacientes con infección por VIH fue de 627 U/ml con un rango que oscilaba de

62 a 4543 U/ml. Al comparar ambos grupos se observa que el título es significativamente superior en el grupo control ( $p < 0.0001$ ).

La mediana del incremento en el título de IgG específica antineumocócica fue de 3,4 con un rango de 0,75 a 17,33 en el grupo control mientras que en la población con infección por VIH fue de 1,6 con un rango de 0,64 a 10,7. De estos datos se desprende que el incremento fue significativamente superior en el grupo control ( $p < 0.0001$ ).

El 82,05% (32 de 39) de los sujetos del grupo control presenta una respuesta serológica adecuada según los criterios previamente definidos. A pesar de que la respuesta en los pacientes con infección por VIH fue globalmente inferior de forma significativa respecto al grupo control, el 30% (18 de 60) de los pacientes con infección por VIH demostraron a las 4 semanas poseer criterios de respuesta serológica adecuada.

Todos estos datos quedan resumidos en la tabla 10.

Tabla 10. Resumen de los datos a las 4 semanas.

	Grupo control	Pacientes con infección por VIH	P
Título basal	550 (150-1750)	385 (39-5054)	0,07
Título a las 4 semanas	1650 (150-9250)	627 (62-4543)	<0,0001
Incremento	3,4 (0-17,33)	1,6 (0-10,7)	<0,0001
Respondedores	82,05%(32/39)	30%(18/60)	

#### 4.2.2. Correlación de la respuesta inmunológica con los niveles de linfocitos T CD4+ e IgG2.

En la tabla 11 se observan los niveles de linfocitos T CD4+ y los niveles de las diferentes inmunoglobulinas incluyendo las subclases de IgG en los pacientes con infección por VIH previamente a la vacunación.

Tabla 11. Niveles de linfocitos T CD4+ e inmunoglobulinas.

	CD4+	IgG total	IgA	IgM	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Mediana	405	1880	203	196	1472	180	88	24
Rango	210-1248	1110-2940	43-873	74-484	736-2880	28-760	16-360	5-400

Un análisis univariado no demostró diferencias en la respuesta a la vacuna entre los pacientes con infección por VIH según su número absoluto de linfocitos T CD4+ según observamos en la tabla 12.

Tabla 12. Análisis univariado según nivel linfocitos T CD4+.

	CD4+:200-500	CD4+ > 500	P
Título basal	660 $\pm$ 961	471 $\pm$ 379	0.891
Título a las 4 semanas	1035 $\pm$ 1049	825 $\pm$ 674	0.732
Incremento	1,98 $\pm$ 1,6	2,14 $\pm$ 2,4	0.772
Nº de pacientes	37	23	

Para comprobar si se produce efecto deletéreo de la vacuna respecto el estado inmunitario se realizó el recuento de linfocitos T CD4+ en 40 pacientes a los 6 meses de la administración. La mediana del número de linfocitos T CD4+ fue de 389 elementos/ml con un rango de 52 a 1377 elementos/ml frente a los 405 elementos/ml (rango de 210 a 1248 elementos/ml) del inicio del estudio lo que no suponía una diferencia significativa ( $p=0.201$ ).

Asimismo no se observaron diferencias significativas en cuanto a la cifra de linfocitos T CD4+, al título basal de anticuerpos ni a la respuesta serológica a las 4 semanas en función del valor de IgG2 tras la realización de un análisis univariado como se puede seguir en la tabla 13.

Tabla 13. Análisis univariado según nivel de IgG2.

	IgG2 < 112	IgG > 112	P
Cifra media de CD4+	482 $\pm$ 222	494 $\pm$ 245	0.769
Título basal	566 $\pm$ 445	594 $\pm$ 881	0.33
Título a las 4 semanas	1140 $\pm$ 970	892 $\pm$ 909	0.442
Incremento	1,9 $\pm$ 1,1	2,1 $\pm$ 2,1	0.86
Nº de pacientes	15	45	

#### 4.2.3. Estudio de subgrupos: respondedores y no respondedores.

Clasificamos a los pacientes en respondedores o no según la respuesta serológica alcanzada a las 4 semanas.

Fueron catalogados como respondedores 18 de los 60 pacientes con infección por VIH (30%) al presentar una respuesta adecuada. Los 42 de 60 pacientes que no alcanzaron los niveles adecuados de anticuerpos se catalogaron como no respondedores (70%). En la tabla 14 y en la figura 5 vemos gráficamente la evolución de ambos subgrupos respecto a la respuesta serológica.

Se realizó un análisis multivariado para observar si la respuesta serológica estaba relacionada con otros parámetros para lo que se tomó como variable dependiente el incremento en los niveles de anticuerpos tras la vacunación y como variables independientes el sexo, la edad, el factor de riesgo para la adquisición del VIH, el valor de IgG2, la cifra de linfocitos T CD4+ y el tratamiento antirretroviral sin que se hallasen diferencias significativas.

#### **4.3. Estudio de la persistencia de anticuerpos en los pacientes con infección por VIH a los 6 meses y a los 3 años.**

En 42 de los 60 pacientes se pudo determinar la respuesta serológica a los 6 meses. En ellos la mediana del título de IgG antineumocócica fue de 571 U/ml con un rango entre 68 y 5187 U/ml que fue significativamente mayor que el título basal ( $p=0,003$ ).

Sin embargo la disminución de la IgG específica entre las 4 semanas y los 6 meses también fue significativa con una  $p=0,005$ .

Al analizar cada paciente de forma individual observamos que 10 de los 42 pacientes que seguían en el estudio (23,8%) aún mantenían unos niveles de anticuerpos adecuados.

Cuando comparamos el número de pacientes con infección por VIH que presentaron respuesta a las 4 semanas (18 de 60) frente a los que presentaban unos niveles de anticuerpos adecuados a los 6 meses (10 de 42) no obtuvimos diferencias significativas ( $p=0,148$ ). De estos 10 pacientes sólo 2 no presentaban criterios de respuesta adecuada a las 4 semanas.

A los 3 años (media 38 meses con un rango de 32 a 41) pudimos recoger suero de 26 pacientes.

En ellos la mediana del título de IgG específica fue de 337 U/ml con un rango de 67 a 4376 U/ml que fue similar al obtenido de forma basal. A pesar de ello, 6 de estos 26 pacientes (23,07%) con infección por VIH aún tenían unos valores de anticuerpos considerados como adecuados frente a *S. pneumoniae*. De ellos, 2 presentaban una respuesta correcta desde el inicio del estudio y 4 desarrollaron niveles de anticuerpos calificados como adecuados tras haberse considerado como no respondedores. De estos 4 pacientes, a los 6 meses, 2 no cumplían con los criterios de niveles adecuados y 2 no se habían presentado al control.

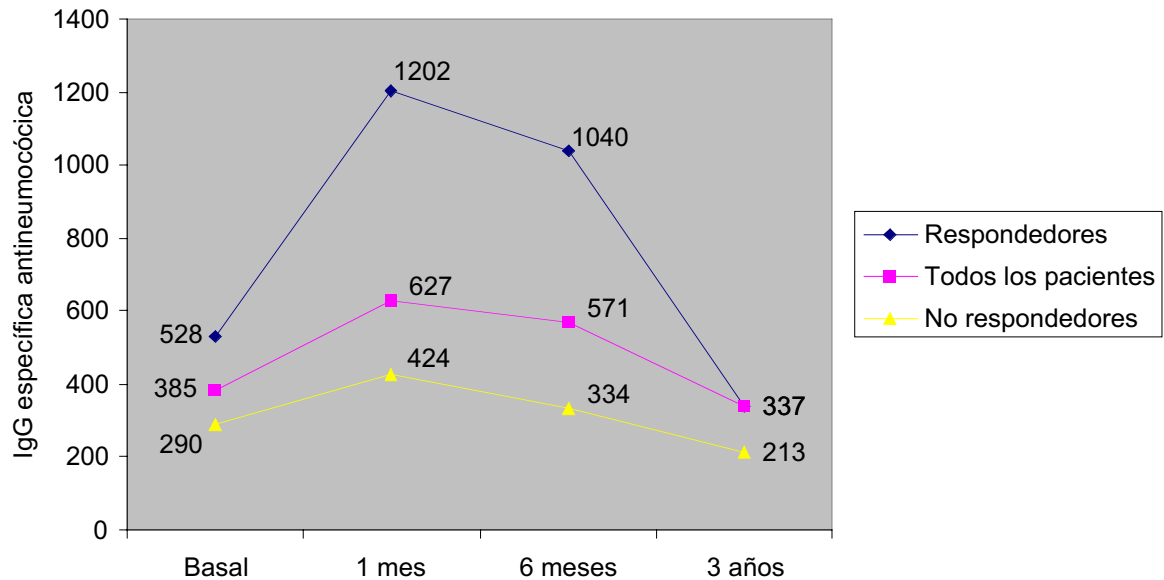
En la tabla 14 y en la figura 2 reflejamos la evolución en los títulos de IgG total específica antineumocócica en los pacientes con infección por VIH según correspondiesen al subgrupo de respondedores o no.

Tabla 14. Mediana y rango de IgG específica antineumocócica en respondedores o no.

	Basal	Al mes	A los 6 meses	A los 3 años
Respondedores	468 (120-1900)	1202 (315-3300)	1040 (150-3700)	337 (110-4376)
No respondedores	290 (39-5054)	424 (62-4543)	334 (68-5187)	213 (67-3175)



Figura 2. Evolución de la IgG específica antineumocócica entre pacientes respondedores y no respondedores.



En las siguientes figuras (3 y 4) podemos observar la evolución de los niveles de anticuerpos específicos IgG a lo largo del estudio y el porcentaje de pacientes con infección por VIH en relación a los pacientes analizados que presentaban niveles de anticuerpos adecuados a lo largo del tiempo.

Figura 3. Evolución de los títulos de IgG específica antineumocócica durante el estudio entre controles y pacientes con infección por VIH.

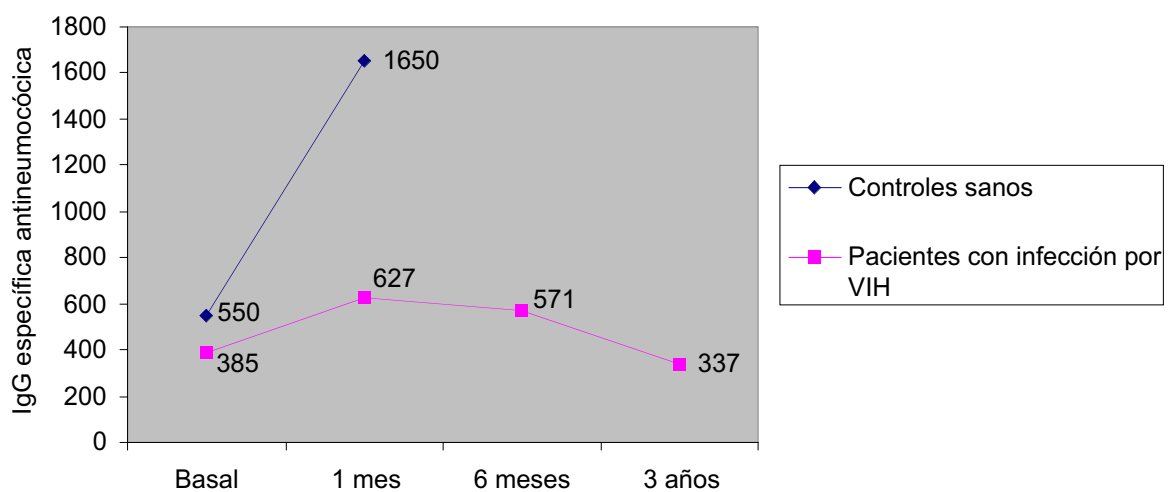
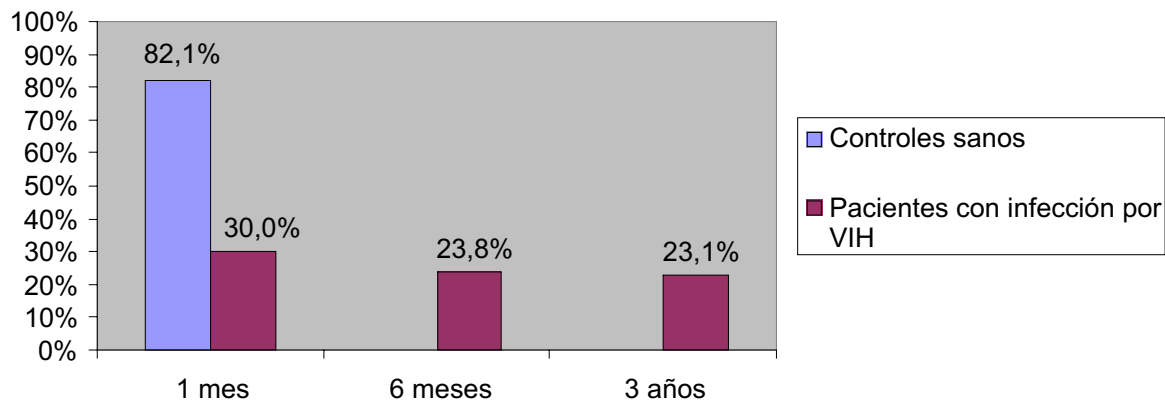


Figura 4. Porcentaje de controles y pacientes con infección por VIH con niveles de anticuerpos específicos adecuados a lo largo del estudio.

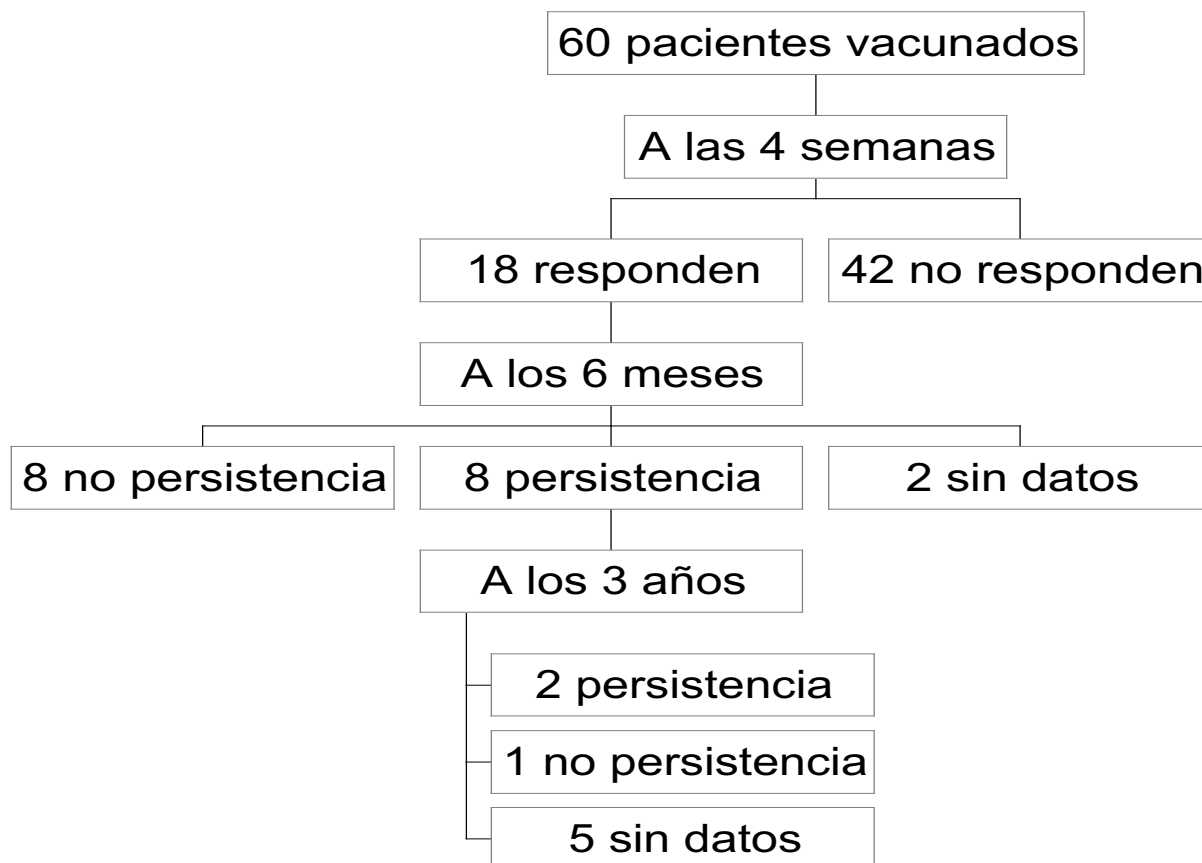


Finalmente, la evolución de los pacientes según el mantenimiento o no de niveles de anticuerpos considerados como adecuados fue la siguiente (figura 5):

- De los 18 pacientes respondedores: en 8 no persistían los niveles de anticuerpos a los 6 meses, 8 los mantenían adecuados y de 2 no se disponía de datos. A los 3 años, de los 8 en los que no persistían los títulos a los 6 meses, 4 no los recuperaron y de 4 no se disponía de datos. De los 8 que mantuvieron los niveles a los 6 meses, a los 3 años de 5 no se tenían datos, 2 aún mantenían unos valores adecuados y el restante volvió a los valores previos a la vacunación. De los 2 pacientes sin datos a los 6 meses, uno a los 3 años tenía títulos no considerados como adecuados y del otro seguimos sin datos.
- De los 42 pacientes no respondedores, 2 presentaron unos valores adecuados a los 6 meses, pero los perdieron a los 3 años. A los 3 años, de este grupo de pacientes, 2 que no habían respondido a los 6 meses y 2 de los que no teníamos datos, elevaron sus niveles de anticuerpos hasta valores considerados como adecuados.

En resumen, de los 18 pacientes respondedores inicialmente sólo 2 mantenían unos niveles de anticuerpos adecuados al final del estudio.

Figura 5. Evolución del número de pacientes respondedores.



#### 4.4. Estudio clínico evolutivo a los 5 años.

De los 60 pacientes incluidos en un inicio en el estudio se realizó el seguimiento clínico de 42 (70%) de forma completa hasta los 5 años. En los otros 18 pacientes (30%) el seguimiento finalizó antes de los 5 años por los siguientes motivos:

- Fallecimiento por complicaciones derivadas de su enfermedad de base en 4 casos (6,66%). Estos pacientes en el momento del óbito presentaban un estadio C3. De ellos, 3 fallecieron el segundo año de seguimiento, mientras que el restante lo hizo durante el quinto año. Las causas de fallecimiento fueron: infección diseminada por citomegalovirus, infección diseminada por virus del herpes simple, criptosporidiasis y criptococosis diseminada en el último.
- Los otros 14 pacientes (23,3%) abandonaron el seguimiento por voluntad propia. De estos, 5 lo hicieron durante el primer año, 2 durante el segundo, 5 durante el tercero y 2 durante el cuarto.

De los 42 pacientes que completaron el seguimiento clínico, 6 de ellos (14,2%) presentaron cifras de linfocitos T CD4+ inferiores a 200 elementos/ml al final del estudio.

Los 4 pacientes que fallecieron presentaban niveles de linfocitos T CD4+ inferiores a 200 elementos/ml.

Respecto a los pacientes que abandonaron el estudio:

- De los 5 pacientes que dejaron el estudio en el primer año, un paciente lo hizo con niveles de linfocitos T CD4+ inferiores a 200 elementos/ml.
- De los 2 que se perdieron en el segundo año de seguimiento, uno de ellos presentaba un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 elementos/ml.
- De los 5 pacientes que finalizaron su control a los 3 años, 4 de ellos lo hicieron con niveles inferiores a 200 elementos/ml de linfocitos T CD4+ .
- De los 2 que se fueron el cuarto año, el nivel de linfocitos T CD4+ se mantenía por encima de 200 elementos/ml.

En total, 16 de los 60 pacientes (26,6%) presentaron en su seguimiento niveles de linfocitos T CD4+ inferiores a 200 elementos/ml.

Durante el seguimiento, 15 pacientes (25%) presentaron complicaciones infecciosas o neoplásicas en relación con la inmunosupresión. De ellos, 4 (26,6%) presentaron más de una complicación y 12 (80%) presentaban un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 elementos/ml. Las complicaciones de los 3 pacientes con un número de linfocitos T CD4+ mayor a 200 elementos/ml fueron:

- Una tuberculosis pulmonar.
- Un carcinoma de cérvix invasivo, y
- Una úlcera mucocutánea por virus del herpes simple.

Las complicaciones de los pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 elementos/ml fueron:

- 5 episodios de infección mucocutánea por virus del herpes simple.
- 5 casos de tuberculosis pulmonar.
- 3 neumonías por *Pneumocystis carinii* .
- 3 casos de criptosporidiasis.
- 2 casos de candidiasis esofágica.
- 1 episodio de retinitis por citomegalovirus.
- 1 episodio de infección diseminada por citomegalovirus
- 1 caso de infección diseminada por virus del herpes simple.
- 1 caso de criptococosis diseminada.
- 1 caso de sarcoma de Kaposi.
- 1 caso de carcinoma de cérvix invasivo.
- 1 caso de toxoplasmosis cerebral.

De los 60 pacientes evaluados y con las salvedades en el seguimiento clínico ya expuestas se presentaron 6 casos de neumonía en 5 pacientes (tabla 15).

Tabla 15. Características de las neumonías diagnosticadas en el seguimiento clínico.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4*	Caso 5	Caso 6*
Meses tras la vacunación	8	25	27	31	37	38
Hemocultivos	Haemophilus influenzae	Negativos	Negativos	No existentes	Negativos	Negativos
Cultivo de esputo	No existente	No existente	Flora mixta	Flora mixta	No existente	Flora mixta
Días ingreso	8	6	5	9	6	5
UCI	No	No	No	No	No	No
Exitus relacionado	No	No	No	No	No	No
Linfocitos T CD4+	630	420	452	465	36	465
Respuesta a la vacunación	No	No	Sí	No	Sí	No
*Los casos 4 y 6 pertenecen al mismo paciente						

Los datos más relevantes fueron:

- De los 5 pacientes, sólo 1 presentaba un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 elementos/ml en el momento del diagnóstico.
- Una de las neumonías ocurrió durante el primer año del estudio. Tres se presentaron durante el tercer año de seguimiento. El paciente que presentó un segundo episodio lo tuvo el cuarto año de seguimiento.
- De los 5 pacientes, 2 se consideraron respondedores. El paciente que presentó dos episodios no reunía criterios de respuesta serológica frente a la vacuna.
- En 5 de los 6 episodios se extrajeron hemocultivos. En uno de ellos se aisló *H. influenzae*. En los otros cuatro el resultado fue negativo.
- En las neumonías sin hemocultivo o con éste negativo, los cultivos de esputo (practicados en 3 de los 5 episodios) no aclararon el diagnóstico etiológico.

- En ningún caso la neumonía se consideró con criterios de gravedad.

Destacamos como:

- Sólo un paciente presentaba un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 elementos/ml.
- Sólo una neumonía cursó con bacteriemia y fue debida a *H. influenzae*. Ocurrió en un paciente no respondedor a la vacuna neumocócica, con un recuento de linfocitos T CD4 + de 630 elementos/ml y en el primer año de seguimiento.
- En ningún caso se pudo demostrar que la etiología fuese *S. pneumoniae*.

**DISCUSION**



A pesar de que la vacunación neumocócica está actualmente recomendada para los pacientes con infección por el VIH<sup>20,30,198,252-254</sup>, todavía no se ha demostrado su eficacia clínica (un ensayo clínico reciente no ha demostrado protección frente a la infección neumocócica invasiva<sup>250</sup>) y se han comunicado resultados discrepantes respecto a la respuesta inmunológica<sup>195,197,224,231-233,239,256,257</sup>. Sin embargo, muchas de estas diferencias están relacionadas con el uso de diversos métodos de determinación de anticuerpos y los criterios utilizados para definir una respuesta normal o adecuada.

Son excepcionales los estudios que muestren la evolución de la respuesta serológica a lo largo del tiempo<sup>233,234,242,258</sup>. En estos estudios previos ya se recoge la necesidad de plantear trabajos a más largo plazo como el llevado a cabo por nosotros. Además, aunque se han comunicado casos de pacientes vacunados frente a *S. pneumoniae* que han padecido una enfermedad neumocócica por un serotipo de los contenidos en la vacuna son escasos los datos acerca del seguimiento clínico de estos pacientes<sup>237-239</sup>.

Antes de cualquier consideración debemos diferenciar los conceptos de inmunogenicidad y eficacia de la vacuna para poder efectuar una valoración de nuestros resultados. Así, la inmunogenicidad indica que el individuo vacunado ha desarrollado una respuesta serológica adecuada, la cual viene definida en la mayoría de los estudios por un aumento superior a 2 veces el título prevacunal de anticuerpos específicos. Por otro lado la eficacia vendría definida por la capacidad que tiene la vacuna de prevenir el desarrollo de enfermedad neumocócica. Para poderla establecer se deberían realizar ensayos clínicos randomizados, a doble ciego y controlados con placebo que incluyeran un tamaño muestral adecuado y tuvieran un seguimiento suficientemente prolongado como para poder establecer diferencias significativas. Dadas las dificultades logísticas para realizar este tipo de estudios, los diseños atienden a estudios caso-control o de cohortes. De aquí que el objetivo principal de nuestro estudio no sea el de establecer la eficacia de la vacuna en nuestra población de pacientes con infección por VIH sino intentar determinar la inmunogenicidad de la vacuna y la persistencia de anticuerpos y, en

todo caso, la incidencia de enfermedad neumocócica a lo largo de los años de seguimiento.

Para efectuar este trabajo seleccionamos pacientes con infección por VIH y niveles de linfocitos T CD4+ superiores a 200 elementos/ml. A pesar de que los polisacáridos capsulares neumocócicos están considerados como antígenos T-independientes<sup>259</sup>, excluimos del estudio a los pacientes con estadio avanzado de la enfermedad (linfocitos T CD4+ inferiores a 200 elementos/ml) por la profunda alteración de sus mecanismos inmunológicos que podrían causar dificultades en la interpretación de los resultados. Ello se debe a la alteración de los linfocitos B en estadios avanzados de la enfermedad<sup>194,230</sup> y que los linfocitos T CD4+ juegan un papel en la regulación de la respuesta inmune<sup>82</sup>. Algunos estudios no han llegado a demostrar diferencias en la respuesta serológica en relación al número de linfocitos T CD4+ siempre que el recuento fuese superior a 200 elementos/ml<sup>197</sup>. A pesar de ello, algún estudio como el de Kroon y cols. observó formación de anticuerpos frente a la vacuna neumocócica aún en aquellos pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 300 elementos/ml<sup>231</sup> si bien la respuesta en el grupo control y en el de pacientes con más de 300 linfocitos T CD4+ fue mayor aunque sin alcanzar significación estadística.

Otra característica de nuestra población es la ausencia de tratamiento antirretroviral en la mitad de los pacientes. Ello se debe a que el inicio del estudio se remonta a un momento en el que ni se había instaurado la TARGA (terapia antirretroviral de gran actividad) ni se determinaba la carga viral como en la actualidad. Actualmente y gracias a la reconstitución inmunológica que conlleva la TARGA la respuesta inmunológica podría ser mejor. Por el momento, no se han llevado a cabo estudios en este sentido, si bien previamente algún artículo hace referencia a la mejor respuesta frente a la vacuna en los pacientes con infección por VIH que realizaban tratamiento con zidovudina frente a los que no lo realizaban<sup>241</sup>. Sin embargo, diversos estudios posteriores, entre los que figura el nuestro, no muestran diferencias respecto a esta variable, probablemente porque la mejoría en el estado inmunológico del paciente con infección por VIH es poco

importante con el tratamiento antirretroviral basado en el uso de un solo fármaco. Este sería un camino a investigar en futuros estudios.

En cuanto al grupo control únicamente determinamos la respuesta inmunológica a las 4 semanas por cuanto es en ese periodo de tiempo en el que se define la respuesta serológica a la vacuna. Para ello seleccionamos pacientes sanos que son aquellos que deben ofrecer la mejor respuesta serológica posible al tener intactos sus mecanismos defensivos. Además, el grupo utilizado por nosotros fue el de referencia para desarrollar la técnica estandarizada en nuestro hospital para la titulación de IgG específica antineumocócica y para comparar la respuesta inmunológica en otros pacientes con inmunodeficiencias<sup>255</sup>.

A pesar de que los títulos basales de anticuerpos podrían estar artefactados por infecciones neumocócicas previas o, en caso de estar disminuidos podrían predisponer a la infección neumocócica<sup>85</sup>, al comparar los títulos basales entre los pacientes con infección por VIH y el grupo control no observamos diferencias significativas.

### **5.1. Métodos de determinación de anticuerpos**

La determinación de anticuerpos se realiza a través de diferentes técnicas. Los primeros estudios determinaban los anticuerpos específicos a través de técnicas de radioinmunoanálisis (RIA)<sup>176-178</sup>. Los anticuerpos determinados por RIA no siempre reflejaban los niveles de anticuerpos funcionales específicos para cada serotipo. Este fenómeno se debía a la utilización de antígenos que contenían tanto los polisacáridos capsulares como el polisacárido C y a la característica del RIA para detectar anticuerpos de alta y baja afinidad.

Posteriormente se desarrollaron técnicas más simples y con capacidad para diferenciar los diferentes serotipos como ELISA<sup>91,179,180</sup>. Las ventajas respecto al RIA son su simplicidad, menor coste, no necesidad de

radiomarcadores y la posibilidad de diferenciar las inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgG). En los sujetos sanos se ha demostrado con estas técnicas la aparición de anticuerpos contra la mayoría de serotipos ya sean de tipo IgM o IgG entre los 5 y 8 días postvacunación. Si bien los anticuerpos IgM desaparecen tras unos meses, la respuesta IgG perdura durante 5 años o más.

Las diferencias observadas en las mediciones de la respuesta serológica mediante RIA o ELISA son en parte debidas a los anticuerpos dirigidos contra el polisacárido C que recordemos no poseen actividad opsonizante<sup>3,184</sup>. Las preparaciones de polisacáridos capsulares utilizadas para la vacuna contienen polisacárido C en cantidad variable según el serotipo. Al ser altamente inmunógeno, los anticuerpos frente el polisacárido C están presentes en todos los sueros humanos, a consecuencia, presumiblemente, de infecciones o del estado de portador nasofaríngeo. La respuesta serológica frente a este polisacárido puede doblar los valores basales tras la vacunación<sup>260</sup>. Si usamos una técnica de ELISA, el polisacárido C se mide junto al polisacárido capsular correspondiente. La preabsorción del suero del polisacárido C puede afectar al resultado de forma importante. De forma similar sucede con la técnica de RIA. De hecho se debe proceder a la preabsorción para poder medir la verdadera respuesta protectora<sup>91</sup>. Aún es más, la medición en el tiempo del declinar de la concentración de anticuerpos también es imprecisa al no poderse aclarar que parte de la disminución de la concentración de anticuerpos corresponde a los anticuerpos frente a los polisacáridos capsulares<sup>93</sup>. Sin embargo, nuestro estudio se inició en una época en la que no existía todavía ningún protocolo estandarizado para la medición de anticuerpos frente a *S. pneumoniae*. La primera ocasión en la que se propuso un protocolo basado en la técnica de ELISA fue organizado en los CDC de Atlanta (USA) bajo el auspicio de la OMS (Organización Mundial de la Salud) en mayo de 1996. Además, este consenso se dirigió hacia la búsqueda de un método uniforme de determinación de la eficacia inmunológica tras la aparición de las nuevas vacunas conjugadas, mientras que nuestro trabajo se centraba en otro punto.

Por todo ello, en nuestros pacientes determinamos la respuesta total IgG mediante una técnica de ELISA sin preabsorción del polisacárido C en vez de considerar la respuesta IgG individual para cada uno de los diferentes serotipos de *S. pneumoniae*. Aunque los pacientes con infección por VIH pueden responder a unos serotipos y a otros no, nuestro objetivo consistía en conocer si los pacientes con infección por VIH podían alcanzar una respuesta serológica adecuada y si ésta era persistente en el tiempo tras medir la respuesta a la vacuna en su conjunto. Una falta de respuesta a uno sólo de los serotipos se puede deber a una falta de exposición previa al mismo o ser fortuita. Esta posible confusión se limita al utilizar los 23 antígenos en su conjunto. Otros autores han utilizado esta aproximación al problema<sup>179,233</sup>, de tal manera que, finalmente, esta técnica está introducida en la actualidad en la rutina de nuestro hospital.

En un estudio previo con sujetos sanos<sup>255</sup> se observó que un pequeño número de pacientes que no respondían correctamente al medir la IgG total, sí lo hacían al determinar algunas de las subclases, por lo que es posible que algunos pacientes con infección por VIH considerados como no respondedores sí lo sean frente a la respuesta específica IgG2. En este sentido un estudio de Unsworth y cols.<sup>240</sup> mostró que sólo el 50% de los pacientes con infección por VIH tenían una respuesta adecuada específica de tipo IgG2 a las 4 semanas de la vacunación frente al 100% de los controles sanos basada en un aumento de al menos un 50% de los títulos prevacunales. Nuestro trabajo demuestra que la respuesta a la vacunación neumocócica es independiente de la cifra previa de IgG2 como ya se había constatado en otros estudios<sup>226,235</sup>.

## 5.2. Niveles protectores de anticuerpos

Si bien las inmunoglobulinas específicas frente a los polisacáridos capsulares tienen una acción protectora, el nivel de anticuerpos necesario para proteger a un individuo frente a la enfermedad neumocócica no está establecido. Los anticuerpos que se desarrollan tras la vacunación estimulan la opsonización y

fagocitosis por parte de los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos. Esta actividad opsonizante se correlaciona con las concentraciones de anticuerpos medidas por ELISA tras la absorción de los anticuerpos frente al polisacárido C<sup>184</sup> con lo que podríamos predecir mejor la respuesta protectora de la vacuna. Aunque con la técnica de ELISA se puede determinar el título de IgG específica frente a cada polisacárido capsular que protege al ratón de los diferentes múltiplos de la dosis media letal de *S. pneumoniae*<sup>183</sup>, no existen datos en humanos de cuál es el título mínimo para protegernos frente a cada serotipo ya que los tests cuantitativos no tienen en consideración la actividad funcional de los anticuerpos. De todas formas, se han intentado homogeneizar los métodos para cuantificar los anticuerpos frente a los polisacáridos capsulares neumocócicos y, así, poder comparar los resultados obtenidos por diferentes laboratorios<sup>182</sup>.

Además la protección frente a la enfermedad neumocócica no depende exclusivamente de los niveles de anticuerpos sino también de otros factores como la capacidad de desarrollar una buena memoria inmunológica<sup>261</sup>.

Inicialmente concentraciones superiores a 300 ng/ml medidas por RIA se valoraron como protectoras, aunque en ocasiones, valores de 500 ng/ml no protegen frente a determinados serotipos<sup>262</sup>. Muchos autores preconizan el doblar niveles de anticuerpos para definir una respuesta correcta. Aunque presenta la ventaja de poder establecer comparaciones entre diferentes trabajos independientemente de las unidades utilizadas, nosotros opinamos que no es igual duplicar niveles partiendo de valores bajos que al hacerlo desde valores superiores. Por dicho motivo creemos que una evaluación correcta de la respuesta necesita usar un valor basal que no esté influenciado por los títulos previos a la inmunización. En un estudio previo realizado en nuestro centro por Rodrigo y cols.<sup>255</sup> se propuso utilizar el límite inferior del 90% del intervalo de probabilidad de los títulos postinmunización de una población de sujetos sanos como el valor que definiría a un paciente como respondedor. Así, si la población de sujetos sanos del estudio representase a la población general, un sujeto normal tendría el 95% de probabilidades de presentar un título postinmunización

superior a dicho valor. Este valor lo denominaron el incremento mínimo significativo y, por lo tanto, aquel sujeto que presentase un incremento en los títulos de IgG antineumocócica mayores a este valor lo consideraron como respondedor a la vacuna. Creemos que este cálculo ofrece una mejor expresión de lo que debe ser una respuesta normal frente a la arbitrariedad del incremento en 2 o 3 veces el título de anticuerpos que se ha usado de forma extensiva.

De todas formas al revisar los trabajos que estudian la respuesta inmunológica a la vacuna nos encontramos con diferentes formas de valorar la respuesta "normal":

- Alcanzar niveles superiores a 1 µg/ml medido por técnica de ELISA<sup>234</sup>.
- Doblar los títulos de anticuerpos a las 4 semanas de la primovacuna<sup>232</sup>.
- Incrementar 2 veces los títulos previos a las 4 semanas con un valor final al menos la media del valor en los controles sanos menos 2 desviaciones estándar<sup>233</sup>.
- Valores superiores a 300 ng/ml<sup>241</sup> o 400 ng/ml medidos por técnica de RIA<sup>224</sup>.

Como ya expresamos al inicio de esta discusión, estas diferentes maneras de interpretar una respuesta serológica normal hacen que los diferentes estudios de los que disponemos sobre la inmunogenicidad de la vacuna neumocócica no sean comparables entre ellos.

### **5.3. Respuesta inmunológica del grupo con infección por VIH. Inmunogenicidad de la vacuna.**

Hemos observado que el grupo de pacientes con infección por VIH asintomáticos con un recuento de linfocitos T CD4+ mayor a 200 elementos/ml tiene una respuesta serológica frente a la vacuna neumocócica inferior al grupo de pacientes sanos. A pesar de ello, aproximadamente una tercera parte de los pacientes con infección por VIH desarrollan una respuesta adecuada en todo momento comparable con la respuesta de los sujetos sanos. En este sentido

creemos que nuestros resultados son superponibles a los previamente publicados<sup>195,224,231,257</sup>. Todos estos estudios demuestran una respuesta disminuida frente a la vacunación neumocócica en los pacientes con infección por VIH aunque algunos pacientes son capaces de desarrollar una respuesta adecuada. Así, Huang y cols. demostraron que un grupo de pacientes con infección por VIH homosexuales eran capaces de desarrollar una respuesta apropiada definida como el aumento en 4 veces el título de anticuerpos previo a la vacunación a las 4 semanas<sup>257</sup>. Janoff y cols. apuntaron que la respuesta serológica disminuida en pacientes seropositivos sanos sugería que la vacunación tendría un beneficio limitado<sup>195</sup>. Incluso, Jain y cols. tras analizar los estudios publicados hasta entonces concluyeron que la vacunación neumocócica en los pacientes con VIH no estaría indicada<sup>263</sup>. Sin embargo, Rodríguez-Barradas y cols.<sup>197</sup> demostraron que los pacientes con infección por VIH con un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 500 elementos/ml respondían peor que los sujetos sanos aunque, de todas formas, un 32% de pacientes con infección por VIH vacunados presentaron valores altos de anticuerpos frente a *S. pneumoniae*. Esta proporción es similar a nuestro porcentaje de 30%.

Un estudio de Rose y cols.<sup>264</sup> que analizaba la política de vacunación en pacientes con infección por VIH frente a la gripe y las infecciones neumocócicas concluía que la efectividad estaba en función del estado inmunológico de la población. En el modelo que ellos proponían demostraron mayor beneficio en estadios precoces de la infección aunque consideraban que los beneficios para pacientes con un mayor deterioro de su estado inmunológico aún eran sustanciales. En este sentido también Weiss y cols observaron como los pacientes que habían adquirido la infección por VIH recientemente desarrollaban unos niveles de IgG específica antineumocócica comparables a los sujetos sanos control para la mayoría de serotipos<sup>232</sup>. En nuestro caso, que todos los pacientes presentaban un recuento de linfocitos T CD4+ superior a 200 elementos/ml, no encontramos diferencias respecto a la respuesta frente a la vacuna en relación a este parámetro. Este hecho es coincidente con el ya conocido de desarrollo de enfermedades oportunistas por debajo de esta cifra y con la progresiva disfunción de los linfocitos B y la pérdida de respuesta a antígenos nuevos<sup>194</sup>. Sin embargo, en los pacientes con una inmunidad



aún conservada, sus clones de linfocitos B específicos para los antígenos polisacáridos se pueden diferenciar a células secretoras de Ig con la ayuda de las citoquinas provenientes de los linfocitos T<sup>233</sup>. Por ello nuestra recomendación sería la de vacunar a los pacientes con infección por VIH lo más precozmente posible (a ser posible con cifras de linfocitos T CD4+ superiores a 200 elementos/ml).

Además, aunque existen trabajos que apuntan que la administración de la vacuna puede causar un incremento en la replicación viral al observarse elevaciones transitorias de la carga viral y, por ende, dañar el estado inmunológico del individuo infectado<sup>243,244</sup>, en nuestros pacientes la administración de la misma no causó un efecto deletéreo en el recuento de linfocitos T CD4+ a los 6 meses de la vacunación. En el momento de realizarse el estudio no se determinaba la carga viral, a pesar de lo cual consideramos que este resultado sugeriría que, aún produciéndose un incremento en la carga viral, éste no afectaría el estado inmunológico del paciente. Este hecho comprobado por nosotros y otros autores<sup>245</sup> apoyaría la seguridad de la vacuna en esta población. En cualquier caso creemos, al igual que otros<sup>265</sup>, que se deben llevar a cabo más estudios para determinar los efectos de la inmunización en la carga viral y sus posibles consecuencias, aunque probablemente este problema sea de menor importancia desde que la vacuna se administra en pacientes que reciben tratamiento antirretroviral de gran actividad y mantienen una replicación viral controlada.

Respecto al seguimiento de la respuesta serológica en el tiempo existen escasos trabajos y con resultados contradictorios. Los estudios anteriores, en general, presentaban un número de pacientes y un tiempo de seguimiento inferiores al nuestro. Cabe reseñar la dificultad que plantean estos pacientes en los estudios prospectivos dadas sus características sociales (pacientes adictos a drogas por vía parenteral, bajo nivel socioeconómico,...) y la posibilidad de fallecimiento con la consiguiente pérdida de sujetos a lo largo del tiempo. Así, si repasamos los estudios previos en los que se realizó un seguimiento serológico a los pacientes vacunados con la vacuna polisacárida 23-valente:

- Rodríguez-Barradas y cols.<sup>234</sup> vacunaron 104 pacientes menores de 60 años y con menos de 500 linfocitos T CD4+/ml. De ellos 33 (32%) fueron considerados como respondedores (niveles superiores a 1 µg/ml a 3 o más de los 5 serotipos testados). En 22 de estos 33 sujetos se completó el seguimiento al año y en 16 a los 2 años. Durante el seguimiento la media del recuento de linfocitos T CD4+ no disminuyó por debajo de 200 elementos/ml. Al año la media del nivel de anticuerpos era la mitad de la inicial y a los 2 años un tercio. Esta misma progresión se observó en el grupo control de sujetos sanos excepto para el serotipo 8 en el cual la respuesta era mejor. Este descenso fue más acusado durante el primer año. Tampoco hubo diferencias en cuanto al porcentaje de sujetos que mantenía la respuesta entre pacientes con infección por VIH y los sujetos sanos.
- Weiss y cols.<sup>232</sup> observaron como los títulos de anticuerpos se mantenían a los 6 meses de seguimiento. En su caso vacunaron a 21 pacientes con seroconversión para VIH menor a 18 meses (la media de linfocitos T CD4+ era superior a 500 elementos/ml) y a 15 controles sanos. Consideraron a un paciente como respondedor si doblaba los títulos de anticuerpos prevacunación a las 4 semanas.
- Mascart-Lemone y cols.<sup>233</sup> vacunaron a 35 pacientes con infección por VIH subdivididos en tres grupos según el recuento de linfocitos T CD4+: más de 500, de 200 a 500 y menos de 200 elementos/ml. De ellos sólo 18 recibían tratamiento antirretroviral. Al valorar la respuesta de las diferentes inmunoglobulinas objetivaron que la respuesta IgM era significativamente más baja que la del grupo control y en relación con el número de linfocitos T CD4+, mientras que para IgA sólo lo era en los pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 500 elementos/ml. Los títulos de IgG antineumocócica (más del 90% eran IgG2) disminuían rápidamente en los pacientes con infección por VIH de tal manera que los títulos eran significativamente más bajos que en los controles tras 9 meses de seguimiento independientemente de la cifra de linfocitos T CD4+. En este caso la respuesta se consideró positiva si a las 4 semanas se observaba un incremento de 2 veces los títulos previos y el valor

final era al menos la media del valor en los controles sanos menos 2 desviaciones estándar.

- Talesnik y cols.<sup>85</sup> vacunaron a 26 pacientes con infección por VIH en diferentes estadios de la enfermedad. Consideraron al paciente como respondedor si doblaba los títulos de anticuerpos previos a la vacunación a los 2 meses. El porcentaje de respondedores a los 2 meses fue del 61,5% y del 37,5% a los 12 meses.
- Nielsen y cols.<sup>242</sup> vacunaron a 103 pacientes con infección por VIH asintomáticos. La valoración de respuesta apropiada se basaba en doblar los títulos prevacunación. A los 12 meses los títulos habían retornado a sus valores basales.
- Kroon y cols.<sup>258</sup> estudiaron la producción de anticuerpos frente a 8 serotipos de polisacáridos neumocócicos tras vacunar a 50 pacientes con infección por VIH. Para algunos serotipos la respuesta inicial al mes era inferior en los pacientes con recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200 elementos/ml frente a los controles sanos. La caída del nivel de anticuerpos era similar entre los controles sanos y los pacientes con infección por VIH seguidos durante 5 años. Sin embargo, a los 3 años los pacientes con infección por VIH presentaban unos valores similares a los basales al partir de títulos previos inferiores.

En los seis estudios se utilizó una técnica de ELISA previa absorción de los anticuerpos frente al polisacárido C.

- Un estudio anterior<sup>224</sup> utilizó el método de RIA sin preabsorción de anticuerpos frente al polisacárido C para medir la respuesta serológica en 4 grupos diferentes: 11 pacientes con infección por VIH adictos a drogas por vía parenteral (ADVP), 13 sujetos sin infección por VIH y ADVP, 10 pacientes con infección por VIH y 10 sujetos sanos. A los 6 meses la respuesta en los pacientes con infección por VIH fue inferior a los otros dos grupos. A pesar de ello algunos pacientes con infección por VIH presentaron una respuesta adecuada definida por unos niveles superiores a 400 ng de nitrógeno de anticuerpo/ml.

- Janoff y cols. administraron la vacuna a 28 sujetos sanos, 25 sujetos sanos homosexuales, 27 pacientes con infección por VIH y 21 pacientes con SIDA<sup>195</sup>. Para comparar los resultados serológicos utilizaron una técnica de ELISA sin preabsorción de anticuerpos frente a polisacárido C. Los pacientes afectados de la infección por VIH o SIDA tenían una respuesta disminuída en comparación a los otros grupos a las 6 semanas. A las 49 semanas si bien los sujetos sanos presentaban unos niveles más altos de Ig, la diferencia no fue significativa respecto a los pacientes con infección por VIH. Se consideraba al paciente como respondedor si doblaba el título de anticuerpos a las 3 semanas de la administración de la vacuna.
- Glasser y cols. vacunaron a 24 pacientes con SIDA o complejo relacionado con el SIDA y recuento de linfocitos T CD4+ inferior 200 elementos/ml que recibían zidovudina. Midiaron la respuesta serológica mediante RIA y consideraron a un paciente como respondedor si su título de anticuerpos era superior a 300 ng de nitrógeno de anticuerpo/ml. A los 8 meses en 6 de 13 pacientes que seguían el estudio se mantenía una respuesta adecuada<sup>241</sup>.

De todos los estudios aquí analizados observamos puntos comunes que dificultan la obtención de resultados más consistentes:

- La escasa duración del seguimiento y la progresiva pérdida de pacientes a lo largo del mismo que puede llegar a ser superior al 50%<sup>234</sup>.
- Los diferentes criterios de definición de respuesta adecuada y las diferentes técnicas utilizadas para la medición de los anticuerpos.
- El limitado número de pacientes enrolados en los estudios.

Como resumen de los resultados podríamos decir que:

- Si bien algunos estudios apuntan que la respuesta a la vacuna polisacárida en los pacientes con infección por VIH desciende con el paso del tiempo<sup>85,224,233,234,241,242,258</sup>, otros no lo observan<sup>195,232</sup> aunque su duración es inferior al año. A pesar de todo, al final del seguimiento en todos los estudios había pacientes que mantenían unos niveles de anticuerpos adecuados.

- Para unos la caída en el nivel de anticuerpos mantiene la misma progresión que en los pacientes sanos; el problema radica en la menor intensidad de la respuesta inicial<sup>234,258</sup>. Otros observan como el declinar del título de anticuerpos es superior en los pacientes con infección por VIH<sup>233</sup>.
- Algún estudio ha puesto de manifiesto la falta de relación entre la caída del valor del título de anticuerpos y un mayor grado de inmunosupresión medido a través de un descenso de la cifra de linfocitos T CD4+<sup>233</sup>.

Nosotros hemos vacunado a 60 pacientes con infección por VIH con un recuento de linfocitos T CD4+ superior a 200 elementos/ml y los hemos seguido hasta los 3 años. Para determinar la respuesta serológica hemos utilizado una técnica de ELISA sin preabsorción de polisacárido C. Hemos demostrado que los niveles de anticuerpos IgG frente a *S. pneumoniae* habían disminuído significativamente a los 6 meses, sin que se correspondiese con un deterioro de la inmunidad (no demostramos diferencias en la cifra de linfocitos T CD4+), y vuelto a sus niveles basales tras 3 años de seguimiento, a pesar de lo cual, algunos pacientes mantenían la respuesta. Esta observación podría sugerir que la revacunación se debería considerar en un periodo inferior a los 3 años tras la primovacunación. De todas formas, no todos los pacientes con infección por VIH debieran ser revacunados. Rodríguez-Barradas y cols.<sup>234</sup> han demostrado que los pacientes que no respondieron a la primera dosis vacunal tampoco lo hicieron a una segunda. Se desconoce el motivo que conduce a una respuesta adecuada a unos pacientes frente a los otros, aunque se sugiere que la falta de respuesta sólo sería la consecuencia de la alteración de la inmunidad debida a la infección por VIH<sup>188</sup>. Mientras que Rodríguez-Barradas y cols. apuntan como factor asociado a una mejor respuesta la presencia de un alotipo Km(1) negativo<sup>234</sup>, Talesnik y cols. opinan que las diferencias fundamentales deben residir en la naturaleza y especificidad de los linfocitos T que regulan la respuesta frente a los antígenos polisacáridos<sup>85</sup>. Nosotros no encontramos ningún parámetro (sexo, edad, factor de riesgo para la adquisición del VIH, valor basal previo de IgG2, cifra de linfocitos T CD4+ y tratamiento antirretroviral) que se asociará con la intensidad de la respuesta serológica con lo que no podemos predecir de antemano qué pacientes presentarán respuesta. Sin

embargo, sería fundamental identificar aquellos pacientes con infección por VIH con una respuesta inicial adecuada para proceder a su revacunación.

#### 5.4. Seguimiento clínico

En nuestro estudio pudimos seguir prospectivamente a 42 (70%) de los 60 pacientes incluidos inicialmente en el estudio durante 5 años, a pesar de la dificultad que entrañaba un seguimiento a largo plazo de este tipo de pacientes tanto por su enfermedad de base (4 fallecieron) como por sus características sociales (14 abandonaron por su propia voluntad). Creemos que la importancia de esta parte del estudio radica en que existen escasas publicaciones acerca del seguimiento clínico de estos pacientes<sup>229,250</sup>, algunas comunicaciones de infecciones neumocócicas en pacientes previamente vacunados<sup>208,229,237-239</sup>, pero siempre referente a otros entornos diferentes a nuestro país.

Si bien en nuestro grupo de 60 pacientes con infección por VIH hemos constatado 6 neumonías en el seguimiento a 5 años, en ninguna de ellas pudimos demostrar la existencia de *S. pneumoniae* (de estos 6 episodios en 2 disponíamos de hemocultivos y cultivo de esputo, en 3 de hemocultivos y en el otro sólo de cultivo de esputo). Aunque no se puede afirmar categóricamente que las neumonías no fuesen causadas por *S. pneumoniae*, sí podemos afirmar que no cursaron con bacteriemia, a pesar de ser frecuente en este tipo de pacientes<sup>204,208</sup>. Respecto a la respuesta frente a la vacuna neumocócica de los pacientes que padecieron los episodios de neumonía, 2 pacientes fueron considerados como respondedores y 3 no. Uno de los pacientes no respondedores presentó 2 neumonías. Únicamente una neumonía se presentó en los 2 primeros años de seguimiento y fue debida a *H. influenzae*. Los pacientes que durante el estudio presentaron cifras de linfocitos T CD4+ menores a 200 elementos/ml no padecieron un mayor número de enfermedades neumocócicas (únicamente 1 de los pacientes que padecieron neumonía cumplía esta condición y no fue el paciente que presentó los 2 episodios), a pesar de conocerse la mayor incidencia en relación a la peor inmunidad. Es

evidente que nuestro estudio no se diseñó para valorar la eficacia, y que estos hallazgos no se pueden atribuir directamente a la vacunación neumocócica, pero podrían insinuar una cierta protección:

1. En los dos primeros años de seguimiento clínico únicamente se constató una neumonía que fue debida a *H. influenzae*. No es hasta el tercer año de seguimiento que constatamos la aparición de tres nuevos episodios de neumonía sin etiología demostrada, que precisamente coincide con el momento en el que observamos como los valores de anticuerpos antineumocócicos retornan a los valores previos a la vacunación. Posteriormente se presentan dos nuevas neumonías en las que tampoco se puede identificar el microorganismo responsable.
2. El paciente que presentó 2 neumonías pertenecía al grupo de no respondedores.

De todas formas no existen estudios en esta población que intenten valorar la eficacia o efectividad a excepción de los publicados por French y cols, y Breiman y cols recientemente. En el ensayo clínico, randomizado y a doble ciego llevado a cabo por French y cols.<sup>250</sup> la vacuna no demostró ser eficaz, pero la población utilizada presentaba niveles de linfocitos T CD4+ inferiores a 200 elementos/ml, no realizaba tratamiento antirretroviral y morían prematuramente por enfermedades oportunistas lo que implica un sistema inmunológico seriamente afectado en el momento de la vacunación. Además cabe decir que este ensayo clínico no se consideraría ético en las naciones desarrolladas, a pesar de la falta de pruebas sobre su eficacia, pues constituye una medida de atención primaria; por lo tanto, sus resultados no son extrapolables. Breiman y cols. publicaron un estudio caso-control para valorar la efectividad de la vacuna en esta población<sup>249</sup> frente a la enfermedad neumocócica invasiva y la cifraron en un 49%. Sin embargo, los controles presentaban mayor inmunodepresión (menor recuento de linfocitos T CD4+ y más pacientes con diagnóstico de SIDA) que los casos lo que puede sesgar los resultados obtenidos. Previamente, Gebo y cols. habían realizado un estudio caso-control para discernir cuáles eran los parámetros que influían en el padecimiento de una enfermedad neumocócica en estos pacientes y halló que la vacunación neumocócica era protectora en los pacientes con un recuento de

linfocitos T CD4+ superior a 200 elementos/ml. Hasta la publicación de estos trabajos, sólo existían diversos estudios sobre inmunogenicidad y comunicaciones sobre fracasos en pacientes concretos<sup>208,229,239</sup>.

En definitiva, si bien los resultados de nuestro estudio no nos permiten dogmatizar sobre la eficacia de la vacuna, sí que apuntan nuevos datos acerca de la inmunogenicidad de la vacuna neumocócica y de la persistencia de los anticuerpos en el tiempo así como de la aparición de enfermedades neumocócicas en los pacientes con infección por VIH vacunados frente a *S. pneumoniae*. Estos datos apoyarían la idoneidad de la vacunación neumocócica de estos pacientes que, junto con la mejor reconstitución inmunológica producida por el tratamiento antirretroviral de gran actividad administrado en la actualidad, probablemente podría contribuir a disminuir la incidencia de la infección neumocócica en esta población.