

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

**VACUNACION DE LACTANTES CONTRA INFECCIONES
ENTERICAS MICROBIANAS**

ROGELIO HERNÁNDEZ-VALENZUELA * y SALOMÓN CALDERÓN ‡

Se estudió la eficacia de una vacuna polivalente oral contra infecciones causadas por enterobacterias con técnica ciega de control doble. Pudiendo destacarse de los diversos parámetros analizados.

1. La vacuna modificó la prevalencia de infecciones entéricas de origen microbiano, disminuyéndola en forma notoriamente significativa.

2. El mismo producto indujo niveles de anticuerpos séricos específicos a salmonela y a estafilococo patógeno en proporciones estadísticamente significativas, mas no así en el caso de shigela.

3. La ausencia de manifestaciones clínicas de infección intestinal en las fechas en que los estudios coprobacteriológicos revelaron la presencia de salmonela o shigela en niños que habían recibido vacuna, permite considerarlos como portadores sanos de estas bacterias e indica que en ellos existió una condición de resistencia inmunológica para las mismas.

* Hospital General, Centro Médico La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social.

‡ Instituto Nacional de Higiene, Secretaría de Salubridad y Asistencia.

4. No se encontraron modificaciones de los niveles de inmunoglobulinas séricas como consecuencia de la vacuna.

5. La vacuna utilizada en esta investigación resultó inocua a la dosis y en los lapsos señalados, dada la baja frecuencia de leves y fugaces manifestaciones de reacciones secundarias indeseables.

6. Teniendo en consideración la trascendencia de la profilaxis de infecciones entéricas microbianas entre los niños de nuestro país, está justificada la aplicación de la vacuna bajo control, para confirmar su eficacia en otros grupos más numerosos.

Las infecciones entéricas (diarreas de origen infeccioso, enteritis) son muy frecuentes entre los niños menores de tres años de edad; ocupan uno de los primeros lugares como motivo de consulta y de internación en los hospitales de niños. Causan el 15 por ciento de todas las defunciones registradas en el país; 69 410 muertes por enteritis y otras enfermedades diarreicas en 1970; poco más de la mitad de estas defunciones ocurren en niños menores de un año y cerca del 85 por ciento en el grupo de cero a cuatro años de edad.¹

Endémicas a nivel nacional, prevalecen en las épocas calurosas y entre las comunidades con mayores defectos sanitarios. Por su elevada morbilidad y sus características epidemiológicas constituyen un problema de salud pública.

Numerosos estudios estadísticos han revelado el predominio de las bacterias enteropatógenas (salmonelas, *Escherichia coli* patógena, shigela y estafilococo patógeno) como sus agentes causales, aun cuando también algunos virus y dos protozoarios (*E. histolytica* y *Giardia lamblia*) se han identificado en su etiología.²⁻³

Su frecuencia disminuye notablemente en los niños que llegan a los tres años de edad, lo cual sugiere un proceso de ma-

duración inmunológica que pudiera relacionarse con los incrementos y variantes fisiológicas de las inmunoglobulinas en los primeros años de vida.⁴

Si bien los antimicrobianos han contribuido a mejorar o curar a una gran parte de los pacientes, no han resuelto cabalmente el problema terapéutico de todos los casos⁵ ni, por supuesto, el de su profilaxis. Esta consiste en: 1) el saneamiento del medio, que implica un largo y costoso proceso de urbanización y de educación higiénica de la población, y 2) la inducción de un estado inmunológico en el lactante, que lo preserve de estas infecciones mediante el estímulo antigénico con vacuna polivalente que sea eficaz y al mismo tiempo inocua.

Del largo historial de experiencias con el uso de vacunas preparadas con gérmenes enteropatógenos muertos, hasta ahora sólo la vacuna T.A.B., parenteral, ha mostrado eficacia en la protección contra las infecciones por *Salmonella typhi*.⁶

En la última comunicación técnica sobre infecciones intestinales los expertos de la Organización Mundial de la Salud declararon: "Sería útil considerar y someter a ensayos prácticos y de laboratorio una vacuna, administrable por vía bucal, contra las infecciones causadas por algunas bacterias enteropatógenas".⁷

Las modernas técnicas de elaboración de vacunas por vía bucal preparadas con gérmenes muertos que implican selección de cepas, cultivos en medios apropiados sintéticos y su destrucción mediante calentamiento lento, han permitido obtener productos con potente capacidad antigénica.⁸

En los últimos años, se han estudiado y experimentado en varias partes del mundo, vacunas bucales preparadas con gérmenes muertos, tanto en animales de laboratorio como en pequeños lotes de lactantes o adultos: Ocklitz,⁹ Mochmann,¹⁰ Reattig,¹¹ Starke y Thilo¹² en Berlín; de Caro¹³ en Roma, Saletti¹⁴ en Siena, Triaú¹⁵ en Lyon, Barbieri¹⁶ en Génova, Hornick¹⁷ y Dupont^{18, 19} en Estados Unidos de América, Mel y Pape²⁰ en Belgrado.

Uno de nosotros ha preparado en México una vacuna polivalente con bacterias enteropatógenas muertas y toxoide de estafilococo patógeno, administrado por vía bucal, que ha sido valorada experimentalmente en roedores (chinchillas) muy susceptibles a las infecciones entéricas microbianas, y durante los últimos cuatro años se ha logrado protegerlos eficazmente y en forma permanente contra estas enfermedades.²¹

En 1969 comprobamos la inocuidad de esta vacuna en un estudio experimental realizado en un grupo de escolares del Internado Nacional Infantil de la Secretaría de Salubridad y Asistencia en quienes se titularon anticuerpos específicos contra shigela, salmonela y estafilococo patógeno en suero sanguíneo, antes y después de administrarla, comparando los resultados con los de otro grupo que recibió placebo, mediante la técnica de control doblemente ciego. La diferencia de

títulos entre estos dos grupos reveló diferencias estadísticamente significativas.

Justificación, hipótesis de trabajo, diseño

Por lo hasta aquí expresado se justifica la presente investigación; su objetivo fue demostrar que se puede inducir protección inmunológica ante las más frecuentes y graves enfermedades entéricas de origen microbiano en los niños menores de tres años, que son ciertamente los sujetos más susceptibles a ellas. La hipótesis de trabajo es que existe una vacuna polivalente capaz de producir respuesta inmunológica y conferir esa protección, similar a la que en forma natural adquieren los mayores de esa edad.

Para obtener resultados confiables el diseño tomó en cuenta tres aspectos: el empleo de la técnica de control doble ciego, el reiterado estímulo antigénico mediante dosis repetidas y ascendentes de vacuna y la supervisión clínica y paraclínica de los sujetos en experimentación durante lapsos no menores de un año.

El estudio evolutivo de lactantes sanos sujetos a una experimentación de tipo inmunitario, requiere la evaluación periódica de sus condiciones generales de salud y crecimiento (estado nutricional, alimentación, morbilidad), de su habitación (higiene del ambiente, hábitos) y de los datos específicos de la respuesta inmunológica (titulación de anticuerpos, inmunoglobulinas).

Por tanto, como parámetros de estudio y evaluación en cada caso se utilizaron los siguientes:

1. Edad, estado de salud y datos somáticos del crecimiento.

2. Características higiénicas personales, de la habitación y del ambiente.
3. Análisis coprobacteriológicos y parasitoscópicos periódicos.
4. Titulación de anticuerpos y de inmunoglobulinas antes y después de la vacunación y al final del estudio.
5. Supervisión clínica estrecha, con registro y valoración de los episodios diarreicos durante la etapa de vacunación y los dos a tres semestres siguientes.
6. Manifestaciones clínicas de posibles efectos indeseables.

Las etapas del programa comprendieron: 1) selección de casos e integración de grupos; 2) suministro del producto (vacuna o placebo); 3) supervisión clínica y paraclínica subsecuente; y 4) concentración de datos y análisis de los resultados.

Material y métodos

Se seleccionaron 263 lactantes derechohabientes de la Clínica 20 del Instituto Mexicano del Seguro Social, que reunieron tres condiciones: ser menores de seis meses de edad, estar sanos y no haber padecido diarrea. De ellos se obtuvieron muestras de heces y de sangre para coprocultivo y titulación de anticuerpos y de inmunoglobulinas en suero sanguíneo. En vista de que en 35 de ellos no se obtuvieron los datos completos necesarios para los análisis estadísticos, se eliminaron del estudio, de manera que la presente investigación se refiere a 228 casos.

Con los niños que se seleccionaban cada semana se integraba un grupo en el que se seguía la misma metodología de estudio; así durante las primeras 20 semanas del calendario de trabajo se formaron 20 grupos, cada uno con un número que varió de 5 a 19 casos (fig. 1). Antes

de iniciar en ellos la etapa de vacunación se reunía a sus madres con el fin de explicarles los objetivos del estudio y solicitarles su anuencia y colaboración.

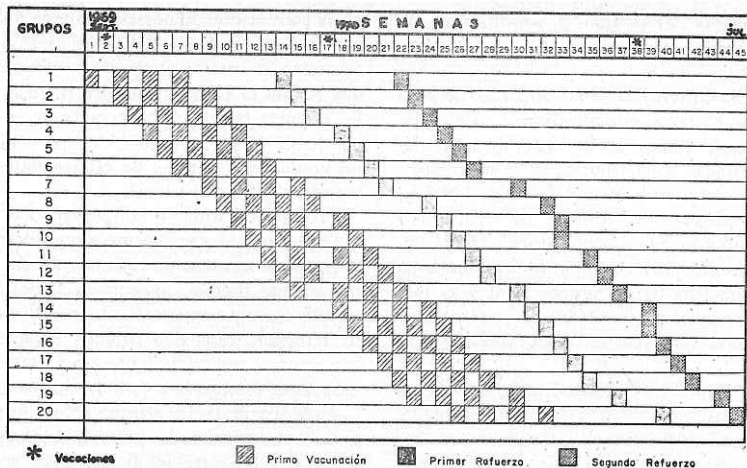
La investigación se inició en septiembre de 1969 cuando los niños del grupo uno recibieron las primeras dosis del producto; terminó la etapa de vacunación en agosto de 1970 cuando se dieron las últimas dosis a los niños del grupo 20. La supervisión clínica se prolongó hasta el segundo semestre de 1971. Durante el año siguiente se realizaron la concentración de datos, los análisis estadísticos y la evaluación de los resultados.

Parámetros de estudio. Clínico. En cada niño se practicaron exámenes médicos periódicos a través de las etapas de la investigación —aproximadamente dos años en cada caso—, con el propósito de identificar: 1) su estado nutricional al principio y al final del estudio, 2) el tipo de lactancia y alimentación predominante, 3) la naturaleza y frecuencia de padecimientos, principalmente episodios de diarrea, y 4) hábitos y fallas de la higiene personal.

En cada episodio diarreico se anotaron: días de evolución, número de evacuaciones por día, fiebre, vómitos, sangre en las deyecciones y si el tratamiento ameritó usar medicamentos, consultar al médico o recurrir a servicios de urgencias, a fin de tener elementos para calificarlo.

Se estudiaron otros aspectos importantes que se relacionan con las posibilidades de contaminación del aparato digestivo, tales como higiene de la habitación, tipo de ésta, y características sanitarias de la zona donde se encontraba situada, en vista de que la selección de casos se hizo sin tomar en cuenta este dato.

La Clínica 20 atiende a la población de 28 colonias de diversos tipos, ubicadas



en la zona norte de la ciudad de México alrededor de la Calzada Vallejo, unas urbanas, otras suburbanas o rurales. Para identificarlas se clasificaron en cuatro tipos: 1) residenciales, 2) departamentos en edificios multifamiliares, 3) colonias urbanas y 4) barrios suburbanos o rurales.²²

A su vez las casas donde habitaban los niños y sus familiares se clasificaron en cuatro tipos de acuerdo con sus características de higiene y de comodidad: 1) casas solas y de la mejor calidad, 2) departamentos, 3) viviendas en "casas de vecindad", con promiscuidad, estrechez y fallas sanitarias, y 4) jacales, en los que prevalecen graves defectos sanitarios y de higiene.

Coprocultivos. Se realizaron con muestras de materia fecal obtenidas mediante hisopos introducidos al ámpula rectal, que de inmediato se colocaban en tubos con caldo de cultivo con el cual se sem-

1

braban cajas de Petri, unas con medios especiales para gram-negativos (S.S., Endo) y otras para gram-positivos (S. 110). Se identificaron las colonias a las 48 horas de incubación y se sometían al proceso de fermentación de azúcares así como a los procedimientos biológicos de aglutinación con sueros polivalentes de salmonela y shigela,²³ aun cuando no se tipificaron especies; el estafilococo patógeno se identificó por la prueba de la coagulasa positiva.²⁴

Titulación de anticuerpos. Se utilizaron antígenos de salmonela y de shigela preparados de acuerdo con la técnica de Harris²⁵ para pruebas de aglutinación en placa; para el estafilococo patógeno, antígeno preparado con cepas de la variedad *aureus*, coagulasa positivo.

Inmunoglobulinas. Se emplearon placas de Hyland IgA, IgG e IgM, que se in-

cubaron, procesaron y cuantificaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Características de la vacuna. Se preparó con bacterias enteropatógenas seleccionadas de cultivos provenientes de cepas clasificadas en el laboratorio de microbiología del Centro Médico La Raza, I.M.S.S., y además con toxoide de estafilococo patógeno previamente titulado. Cada ml. del producto contenía 150 millones de salmonela de los grupos B, C y G más frecuentemente aislados en coprocultivos de pacientes con infecciones entéricas, 150 millones de shigela de los grupos A y B y 300 millones de *Escherichia coli* patógena de los tipos 026, 055, 0111, 0119 y 0126, bacterias que fueron cultivadas en medios sintéticos y después muertas por calentamiento a 56°C. durante una hora, lo que permite nulificar su acción patógena y conservar su actividad antigénica.²⁰ El toxoide de estafilococo se preparó con cepas coagulasa positiva y se tituló mediante técnicas establecidas. El placebo consistió en solución salina isotónica.

Suministro del producto. Vacuna o placebo fueron suministrados a los niños por distribución alternada entre los casos seleccionados, en sus domicilios y personalmente por algún miembro del equipo de trabajo. Se dejaban caer en su boca las gotas del producto 30 minutos después de un alimento.

Los productos fueron proporcionados en frascos goteros de color café, de 10 ml., que se mantuvieron en refrigerador a menos de 10°C. y, durante el trabajo de campo, en termos manuales. Uno de los productos correspondió a frascos con etiqueta blanca y números nones (producto non) y otro a frascos con marbete verde y números pares (producto par). Este

doble control permitía evitar equivocaciones pues en las hojas diarias del trabajo de campo se anotaba el tipo del producto que recibía el niño, el número de gotas, los minutos transcurridos después de ingerido el último alimento, las posibles manifestaciones clínicas de efectos indeseables, y las observaciones.

Para lograr estímulos antígenicos reiterados se estimó conveniente suministrar el producto seis días de cada una de cuatro semanas alternas, aumentando la dosis en cada lapso y, posteriormente, dos series de refuerzos, cada uno también durante una semana, respectivamente 2 y 4 meses después de terminada la primovacunación.

Cada día de la 1a. semana se dio una gota, la 3a. semana, dos gotas, la 5a., tres y la 7a. y las correspondientes a los refuerzos, cuatro gotas. El primer día de cada una de las semanas sólo se administró una gota, con el fin de evitar reacciones de hipersensibilidad de tipo Schwartzman.

Reacciones secundarias indeseables. Durante la etapa de vacunación se tuvo cuidado de anotar en los casilleros *ex-profeso* de las hojas de trabajo de campo, las manifestaciones que pudieran ser consideradas como reacciones indeseables: vómitos ocasionales, diarrea leve y fugaz, febrícula o manifestaciones cutáneas.

Resultados

De los 228 niños que constituyen el material clínico de la investigación, 135 recibieron producto non, grupo vacuna, en tanto que a 93 se les dio producto par, grupo placebo.

Edad. Las edades de los niños al inicio del estudio aparecen en el cuadro 1. Como puede verse, 151 casos (65 por ciento del

Cuadro 1 Distribución por edades al inicio del estudio

	Grupo vacuna	Grupo placebo	Total
Menores de 1 mes	135	93	228
Menores de 1 mes	3	2	5
De 1 mes	11	13	24
De 2 meses	41	9	50
De 3 meses	32	21	53
De 4 meses	25	23	48
De 5 meses	18	20	38
De 6 meses	5	5	10
Total	135	93	228

total) fueron lactantes de cero a cuatro meses de edad; el promedio de ésta para el grupo vacuna fue de 3.1 y para el grupo placebo de 3.4 meses, sin encontrarse diferencias significativas ($p < 0.25$).

Sexo. Al grupo vacuna correspondieron 60 lactantes del sexo masculino (44 por ciento) y 75 del femenino (56 por ciento); el grupo placebo estuvo integrado por 52 niños (56 por ciento) y 41 niñas (46 por ciento), es decir, no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

Estado de nutrición. Se valoró por la relación de la edad con el peso corporal de acuerdo con criterios y patrones previamente establecidos,²⁸ al inicio y al final del estudio, en cada uno de los casos de

los grupos vacuna y placebo (cuadro 2), sin que se encontraran diferencias significativas ($p < 0.25$ y $p < 0.50$, respectivamente).

Tipos de casa-habitación y hábitos higiénicos. Los análisis estadísticos de la distribución de tipos de casa-habitación y de las diversas áreas donde éstas se encontraban ubicadas, así como de los hábitos higiénicos correspondientes a los dos grupos no revelaron diferencias estadísticamente significativas.

La geofagia, considerada como mal hábito de higiene, se registró en 45 casos del grupo vacuna (35 por ciento de los casos) y en 36 del grupo placebo (39 por ciento).

Tipos de lactancia y alimentación. Al inicio del estudio, la proporción de lactantes de uno y otro grupos que tomaban leche materna, leche fresca de vaca o leches en polvo, no mostraron diferencias significativas ni tampoco se registraron éstas en relación con los otros alimentos complementarios de sus dietas rutinarias, en las edades posteriores.

Estudios coprobacteriológicos. De los 728 análisis que en total se practicaron a los niños de ambos grupos, 228 corresponden a la serie de los iniciales, en fechas previas al suministro del producto, 228 a la segunda serie —realizada durante la

Cuadro 2 Estado de nutrición de los niños

	Inicial				Final			
	G. vacuna		G. placebo		G. vacuna		G. placebo	
Grado de nutrición	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Eutróficos	124	92	79	85	91	67	56	60
Desnutridos I grado	11	8	14	15	39	29	33	36
Desnutridos II grado	—	—	—	—	5	4	4	4
Total	135	100	93	100	135	100	93	100

Cuadro 4 Gérmenes patógenos en 434 coprocultivos de niños del grupo vacuna y en 294 del grupo placebo

Gérmenes	Grupo vacuna		Grupo placebo		Total
	No.	%	No.	%	
<i>E. coli</i> patógena	32	7.3	33	11.2	65
<i>Shigela</i>	2	0.4	1	0.3	3
Salmonela	5	1.1	6	2.3	11
Estafilococo patógeno	76	17.4	22	7.4	98

que cualquiera otra de las bacterias gram-negativas, o aun que su conjunto.

En estos resultados los por cientos de bacterias enteropatógenas, en relación con el total de gérmenes identificados en los coprocultivos y en relación con el número de muestras fecales analizadas, de uno y otro grupo de niños, no revelan diferencias significativas, excepto para el estafilococo patógeno ya que éste se encontró con mayor frecuencia en el grupo vacuna ($p < 0.001$).

Parásitos intestinales. Las madres pudieron observar que los niños expulsaron ascárides en 30 casos (22 por ciento) del grupo vacuna y en 13 casos (14 por ciento) del grupo placebo.

Los análisis coproparasitológicos se realizaron en 103 casos de los 135 niños del primer grupo y en 69 de los 93 del segundo. Sus resultados muestran (cuadro 5) que la mitad de ellos fueron negativos; una tercera parte reveló la presencia

de huevecillos de ascárides y en cerca del 10 por ciento se encontraron los de *Giardia lamblia*, sin diferencias significativas entre uno y otro grupos ($p < 0.50$). En cambio se identificaron trofozoitos de *Endoameba histolytica* en 8 casos del grupo vacuna y en sólo 2 del grupo placebo.

Titulación de anticuerpos específicos en suero sanguíneo. En el cuadro 6 se señalan los títulos para shigela encontrados en los dos grupos de niños; en el primer análisis, que corresponde a fechas previas al inicio del suministro de productos, todos resultaron negativos; en el segundo, practicado generalmente al terminar la etapa de vacunación, se encontraron 17 casos del grupo vacuna positivos, y en el tercero, realizado en las fechas de supervisión final, sólo cuatro casos de este grupo resultaron positivos. Todos los títulos positivos fueron 1:20.

Respecto a los títulos de anticuerpos a salmonela (cuadro 7) puede verse que todos fueron negativos en el análisis inicial en ambos grupos, excepto en un caso del grupo vacuna. En la segunda serie de análisis se encontraron positivos en 85 de 133 casos del grupo vacuna (63 por ciento) y en 19 de 89 casos del grupo placebo (21 por ciento); en la tercera serie de análisis fueron positivos en 48 por ciento de los casos del grupo vacuna y sólo en 11 por ciento de los del grupo placebo, es decir, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.005$) en las series del segundo y tercer análisis.

Cuadro 5 Resultados de los coproparasitológicos

Grupo	No. de casos	Total de análisis	Negativos	Ascárides	<i>Giardia lamblia</i>	<i>E. histolytica</i>	Oxiuros
Vacuna	103	113	52	34	13	8	1
Placebo	69	70	45	18	5	8	1

Cuadro 6 Anticuerpos a shigela

Análisis	Grupo	No. de casos	Negativos	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
<i>Primero</i> *	Vacuna	133	0	0	0	0	0	0
	Placebo	91	0	0	0	0	0	0
<i>Segundo</i> ‡	Vacuna	133	116	17	0	0	0	0
	Placebo	89	88	1	0	0	0	0
<i>Tercero</i> . §	Vacuna	76	72	4	0	0	0	0
	Placebo	39	39	0	0	0	0	0

* Antes del suministro del producto.

‡ Al finalizar la etapa de vacunación.

§ Durante la última supervisión.

En cuanto a los anticuerpos contra el estafilococo patógeno (cuadro 8), en la serie del primer análisis fueron negativos para ambos grupos, excepto en cuatro casos de los vacunados y en dos de los testigos; en la serie del segundo análisis fueron positivos en 52 por ciento de los casos vacuna y en 24 por ciento de los del grupo placebo y en el tercer análisis resultaron positivos en 93 por ciento de los casos del grupo vacuna y sólo en 15 por ciento de los del grupo placebo, o sea con diferencias estadísticamente significativas en el segundo y tercer análisis ($p < 0.005$ para ambos casos).

El mayor número de casos de títulos positivos a salmonela y a estafilococo patógeno correspondió a los de gradientes 1:20 y 1:40, y menores proporciones a los de 1:80 y 1:160.

Inmunoglobulinas. En cada uno de los niños se practicaron titulaciones de inmu-

noglobulinas A, G y M en suero sanguíneo, en tres o cuatro ocasiones; la primera antes del suministro del producto, la segunda generalmente seis a ocho meses después y la última en la fecha de la última supervisión.

La serie del primer análisis comprendió 224 casos, la del segundo, 222; la del último, 125 y en 148 ocasiones hubo oportunidad de obtener todavía un análisis más. En total se realizaron 1 798 titulaciones: 568 de IgA, 624 de IgG y 606 de IgM.

Teniendo en cuenta las variantes fisiológicas de los niveles de cada una de estas inmunoglobulinas en suero sanguíneo que dependen de la edad y el sexo, primero se elaboraron dos listas de los casos del grupo vacuna, una para los de sexo masculino y otra para los de sexo femenino, distribuyendo los promedios y sus desviaciones estándar en 25 grupos, de 0 a 25

Cuadro 7 Anticuerpos a salmonela

Análisis	Grupo	No. de casos	Negativos	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640
<i>Primero</i>	Vacuna	133	132	0	1	0	0	0	0
	Placebo	91	91	0	0	0	0	0	0
<i>Segundo</i>	Vacuna	133	42	52	20	10	3	0	0
	Placebo	89	70	5	12	2	0	0	0
<i>Tercero</i>	Vacuna	76	39	36	0	1	0	0	0
	Placebo	49	44	4	1	0	0	0	0

Cuadro 8 Anticuerpos a estafilococo patógeno

Análisis	Grupo	No. de casos	Negativos	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320
<i>Primero</i>	Vacuna	133	129	1	0	1	2	0
	Placebo	91	89	0	1	0	1	0
<i>Segundo</i>	Vacuna	133	64	44	15	5	3	4
	Placebo	89	67	4	10	6	2	0
<i>Tercero</i>	Vacuna	76	5	46	15	5	3	2
	Placebo	39	33	6	5	1	0	0

meses, de acuerdo con la edad que tenían al practicar los estudios. Igual se hizo con los del grupo placebo.

Los análisis estadísticos mostraron que no existen diferencias significativas entre los datos correspondientes a los del sexo masculino con respecto al femenino, ni tampoco entre los del grupo vacuna comparado con los del grupo placebo, por lo que se señalan en el cuadro 9 los resultados de promedios y desviaciones estándar de todos los casos.

Otros diversos análisis estadísticos que tomaron en cuenta, por una parte, los promedios de cada una de las inmunoglobulinas encontradas en los exámenes inicial, intermedio y final y, por la otra, algunos de los parámetros clínicos o paraclínicos, comparativamente entre el grupo vacuna y el placebo, no revelaron diferencias estadísticamente significativas.

Evaluación clínica. Incluyó la frecuencia y características de los episodios diarreicos registrados a través de los lapsos de vacunación y de supervisión subsecuente. Los datos obtenidos de los expedientes de la clínica, de las supervisiones en el hospital y de las visitas a domicilio se señalan, en resumen estadístico, en los cuadros 10 y 11. Los más importantes son los siguientes:

1) En el grupo de niños que recibieron vacuna se registraron 17 casos que

nunca tuvieron diarrea, en tanto que en los que tomaron placebo todos tuvieron episodios diarreicos.

2) En el grupo vacuna sólo se registraron seis episodios de diarrea grave entre los 362 anotados (1.6 por ciento); en el grupo placebo se comprobaron 82 episodios diarreicos graves entre los 459 registrados (17.8 por ciento).

3) Los seis episodios de diarrea grave entre los 135 niños del grupo vacuna correspondieron a seis casos (4.4 por ciento); los 82 cuadros clínicos de diarrea grave entre los 93 niños del grupo placebo se registraron en 64 casos (67 por ciento): en 47 de ellos ocurrió un episodio de este tipo; en 13 casos dos episodios y en cuatro casos, tres.

4) El promedio del número de episodios de diarrea por niño, entre los que tomaron vacuna, fue 2.68, en tanto que en los que recibieron placebo fue de 4.05.

Las diferencias en los cuatro puntos señalados son estadísticamente significativas ($p < 0.005$).

5) El promedio de evacuaciones intestinales por episodio diarreico fue de 4.64 y 5.52, respectivamente, para los grupos vacuna y placebo; el promedio de días-diarrea para cada uno de estos grupos fue de 3.45 y 5.25, respectivamente.

Los porcentajes relativos a los signos clínicos y a las medidas de tratamiento

Cuadro 9 Inmunoglobulinas A, G y M en suero sanguíneo

Edad en meses	No. de casos	IgA Promedio mg./100 ml.	D.E.	No. de casos	IgG Promedio mg./100 ml.	D.E.	No. de casos	IgM Promedio mg./100 ml.	D.E.
0	3	100.0	27.33	3	920	164.26	3	104.0	30.41
1	30	66.62	33.61	32	1324.04	292.59	38	60.31	35.92
2	36	83.27	57.96	41	1373.58	469.17	39	79.38	47.02
3	20	54.37	24.28	31	1178.03	305.17	28	108.88	68.64
4	33	67.39	25.85	46	1246.05	430.54	41	87.82	54.32
5	41	67.40	37.26	48	1271.41	375.66	47	98.25	48.04
6	26	66.13	20.56	31	1310.95	410.8	29	89.84	59.21
7	28	73.08	29.02	29	1169.59	394.93	29	97.7	28.74
8	28	72.29	26.36	28	1137.64	319.84	26	89.99	38.16
9	20	80.67	34.18	20	1197.5	384.64	20	108.6	37.84
10	30	85.95	36.13	30	1337.83	470.49	30	110.5	37.76
11	26	84.0	21.20	27	1177.82	447.46	27	90.47	31.50
12	21	99.65	65.11	23	1301.72	369.94	23	104.88	35.29
13	16	75.54	22.69	16	1220.61	378.95	16	92.24	32.44
14	8	88.37	38.41	8	1167.0	276.9	8	115.25	38.43
15	2	72.0	25.45	2	950.0	399.14	2	115.0	35.35
16	6	106.82	43.76	6	1091.66	230.05	6	112.63	61.57
17	16	110.82	27.51	16	1260.72	467.33	16	128.27	31.20
18	20	134.94	45.42	20	1060.45	279.94	20	125.07	31.90
19	12	103.97	45.03	12	984.97	194.49	12	133.31	31.41
20	16	110.19	24.95	16	1002.5	236.47	16	120.81	23.66
21	26	108.94	34.37	26	1110.54	418.18	26	133.79	31.02
22	23	106.56	33.43	23	1098.52	330.83	23	151.97	87.67
23	24	109.37	33.46	24	1169.67	335.39	23	115.29	35.78
24	28	136.54	49.39	28	1000.36	374.81	28	144.01	46.12
25	11	101.44	32.83	11	1109.07	201.67	11	115.62	32.99
25/30	18	118.51	39.0	18	1123.06	471.87	18	136.53	29.82

Cuadro 10 Frecuencia de episodios diarreicos

	Vacuna %	Placebo %
No. total de diarreas	362 (100)	459 (100)
No. de diarreas no graves	356 (98)	377 (82)
No. de diarreas graves	6 (2)	82 (18)
No. de casos	135 (100)	93 (100)
No. de casos con diarrea	118 (97)	93 (100)
No. de casos sin diarrea	17 (13)	0 (0)
Promedio de diarreas por caso	2.68	4.93
Promedio de diarreas no graves	2.63	4.05
Promedio de diarreas graves	0.05	0.88

que ameritaron los pacientes, utilizados como parámetros complementarios para evaluar la gravedad de los episodios diarreicos (cuadro 11), muestran diferencias significativas ($p < 0.005$) en favor del grupo vacuna.

En relación con la coincidencia de infecciones de vías respiratorias superiores (I.V.R.S.) se encontraron porcentajes de 8.8 por ciento para el grupo vacuna y de 7.4 por ciento para el grupo placebo, diferencia sin significación estadística.

Efectos indeseables. En general se registraron en los primeros días de la semana (posible manifestación de reacción tipo Schwartzman), siendo los más frecuentes diarrea leve y fugaz (uno o dos días) o fiebre moderada y por pocas horas. Se encontraron en 136 ocasiones de 4 622 visitas a los niños del grupo vacuna (2.8 por ciento) y en 26 de las 3 258 visitas a los niños del grupo placebo (0.7 por ciento); es decir fueron cuatro veces más frecuentes entre los del primer grupo.

Discusión y comentarios

El programa y la evaluación de la presente investigación se condujeron con meticulo-

so apego a la metodología del doble control ciego de su diseño; la identificación de los productos usados, vacuna y placebo, se hizo después de haber concluido el análisis estadístico de los resultados. De particular importancia fue la estrecha coordinación en el trabajo del personal multidisciplinario que intervino en ella.

La valoración de la eficiencia del producto inmunizante tuvo que apoyarse en los resultados de varios parámetros medibles, específicos y demostrables de la respuesta inmunológica, unos clínicos y otros paraclínicos y, por ser los sujetos de la experimentación menores de tres años, fue también necesario registrar y evaluar los principales datos concernientes a su salud y a su crecimiento.

En la distribución por edades, sexo, estado nutricional al inicio del estudio, clase de alimentación, tipo de casa-habitación, condiciones de higiene, hábitos de geofagia y frecuencia de parasitosis intestinal, aspectos todos que pudieran ser variantes influyentes, los resultados muestran que los dos grupos, vacuna y placebo, no tuvieron diferencias estadísticamente significativas por lo que pueden conside-

Cuadro 11 Parámetros clínicos complementarios

	Grupo vacuna %	Grupo placebo %
Sintomatología		
Vómito	12.6	27.3
Fiebre	23.3	43.4
Sangre en las deyecciones	1.4	1.8
Medidas de tratamiento		
Medicamentos	64.7	82.1
Consulta médica	51.2	73.9
Internación en serv. urgencias	2.1	3.9

rarse homogéneos y pertenecientes al mismo universo de estudio.

La supervisión médica y de análisis de laboratorio comprendió para cada niño lapsos de 20 a 24 meses desde la fecha de su selección hasta la de su último examen, es decir, hasta la etapa de edad en que la frecuencia e importancia de las infecciones entéricas se reducen notablemente en forma natural.

En la etapa final del estudio se encontró en ambos grupos mayor proporción de desnutridos, sin diferencias significativas, lo cual coincide con lo habitualmente registrado, a partir del segundo semestre de edad, entre la población infantil de comunidades sociales como las que involucró este estudio.²⁷

Los análisis coprobacteriológicos revelaron las proporciones de gérmenes saprófitos y patógenos en las series del primero y del segundo análisis sin diferencias estadísticas en los dos grupos, lo que refuerza la conclusión expresada antes sobre su homogeneidad.

En cambio, en la serie de análisis practicados en fechas posteriores al suministro de los productos, fue mayor el número de gérmenes aislados en el grupo que recibió la vacuna (a pesar de que en él se registró menor número de episodios diarreicos), teniendo esta diferencia significancia estadística ($p < 0.05$).

Es obvio que el suministro de vacuna o placebo no impide la presencia de gérmenes patógenos en la luz intestinal cada vez que ocurre una contaminación.

La mayor frecuencia de estos gérmenes durante el segundo y tercer semestres de edad, así como su franca disminución a partir del segundo año de vida, están en concordancia con los hallazgos registrados en estudios previos sobre la evolución de

la flora enterobacteriana normal del niño en sus primeros años.²⁸

El número de ocasiones en que se encontró estafilococo patógeno fue mayor que el del conjunto de bacterias gram-negativas, dato no referido en estudios coprobacteriológicos que no incluyen siembras simultáneas en medios de cultivo apropiados.

Los títulos de anticuerpos en suero sanguíneo, en la serie de análisis realizados antes del suministro de productos, fueron negativos para shigela y salmonela en todos los casos de los dos grupos y para estafilococo patógeno en 98 por ciento de los mismos, lo que también demuestra su homogeneidad en cuanto a contaminación por estos gérmenes. En cambio los resultados de las titulaciones practicadas después del suministro de productos sí revelan diferencias significativas. Respecto a shigela fueron positivos en 17 casos del grupo vacuna y sólo en uno del grupo placebo y es interesante que en la serie final de estos análisis, el número de los positivos descendió a sólo cuatro; se puede inferir que los anticuerpos que inducen los antígenos de shigela son bajos y transitorios, lo que está de acuerdo con lo que a este respecto se sabe.²⁹

En relación a salmonela los títulos positivos en la serie de estudios realizados después de terminada la administración de productos se encontraron en 64 por ciento de los casos vacunados y sólo en 21 por ciento de los que recibieron placebo; en lo referente a estafilococo patógeno, los positivos en esa misma serie fueron identificados en 52 por ciento de los vacunados y en 24 por ciento de los testigos, lo que muestra diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.005$), y la acción antigénica de la vacuna.

Las referencias a títulos positivos incluyen todos sus gradientes desde los calificados como 1:20. Conviene aclarar que desde el punto de vista de diagnóstico clínico, en pacientes o convalecientes, sólo se consideran significativos los títulos de 1:80 o mayores, porque se valoran situaciones de infección por bacterias vivas que se reproducen en el organismo y son capaces de inducir formación importante de anticuerpos; pero como aquí se juzga la respuesta inducida por una vacuna de bacterias muertas, cabe esperar menor producción de esos anticuerpos y por tanto es justificado tomar en cuenta titulaciones desde 1:20.

Posiblemente algunos niños de esta investigación en los que se encontraron títulos mayores de 1:80, fueron portadores activos o convalecientes de una infección por los gérmenes correspondientes.

La existencia de títulos positivos a salmonela o a estafilococo patógeno en los niños que recibieron placebo puede interpretarse estimando que algunos de ellos tuvieron contaminaciones naturales con dichos gérmenes en fechas en que no se realizaron coprocultivos que los identificaran y, en el caso del estafilococo patógeno, que este germen se encontrara albergado en otra parte de su organismo y que indujera respuesta inmunitaria.

Hay que recordar que *Escherichia coli* patógena induce una escasa formación de anticuerpos, específicos o cruzados con los de salmonela, que sólo laboratorios muy especializados tienen posibilidad de titular.

Aspectos fundamentales son los relativos a la frecuencia, características y valoración de los episodios diarreicos. El criterio para calificarlos estuvo basado clínicamente en los siguientes datos: cuan-

do el cuadro clínico tenía más de ocho días de evolución, había fiebre mayor de 38.5°C. y vómitos, se consideraban como diarrea aguda grave; cuando tales condiciones no existían, se calificaban de diarrea aguda no grave.³⁰ La primera corresponde a la habitualmente designada como diarrea de origen infeccioso, enfermedad diarreica, enterocolitis, gastroenteritis o infección entérica.

La presencia de sangre en las deyecciones fue otro signo que se investigó en todos los episodios diarreicos por ser un elemento de gravedad ya que indica ulceración de la mucosa intestinal en la fase de penetración del agente causal (generalmente shigela, amiba histolítica, estafilococo patógeno, salmonela). No se encontraron diferencias significativas en las proporciones con que se registró este signo en los dos grupos.

La frecuencia de cuadros de diarrea grave en relación con el número total de episodios diarreicos registrados en uno y otro grupos, revela diferencias evidentes, muy significativas: seis entre 363 del grupo vacuna (1.7 por ciento) en contraste con 82 entre 459 del grupo placebo (17.8 por ciento).

Los seis episodios de diarrea grave en el grupo vacuna se registraron en seis niños; los 93 del grupo placebo correspondieron a 64 niños de este grupo. Además, entre los del primer grupo, 17 nunca tuvieron episodio diarreico alguno, en tanto que entre los del segundo, ninguno dejó de sufrir uno o varios cuadros diarreicos.

Si con estos datos se elabora la fórmula propuesta por Ipsen y Feigl³¹ para obtener el índice de efectividad de una vacuna, se encuentra que en la utilizada en el presente estudio la efectividad es del 90.6 por ciento.

Además de los resultados concernientes al análisis estadístico de grupos, es importante mencionar los relativos a los 13 casos individuales en que los estudios coprobacteriológicos mostraron la presencia de shigela o salmonela en etapas posteriores al suministro de productos, pues en seis de ellos que habían recibido vacuna no existió cuadro diarreico alguno en las fechas en que sus coprocultivos revelaron la existencia de alguna de estas bacterias, en tanto que en siete que tomaron placebo siempre se registraron episodios de diarrea grave, con fibere, vómitos y a veces sangre en las deyecciones, precisamente en las fechas en las que en las coprobacteriologías se identificaron tales gérmenes.

Otro análisis individual se refiere a tres parejas de casos que, por ser primos-hermanos, convivían en los mismos hogares y, por supuesto, bajo las mismas condiciones de higiene, cuidados y alimentación; a unos se suministró vacuna y a otros placebo. Entre los primeros sólo se registraron nueve episodios diarreicos, ninguno grave y el número de días-diarrea fue de 28, en tanto que entre los segundos ocurrieron 16 episodios de diarreas, tres de ellos graves y el número de días-diarrea fue de 111.

Por otra parte importa consignar respecto a los seis casos del grupo vacuna que tuvieron cuadros de diarrea grave, que en dos de ellos los estudios coproparascopícos revelaron la presencia de *E. histolytica*, en otros dos la de *Giardia lamblia*, y en otro caso más el episodio ocurrió antes de que hubiera terminado la etapa de vacunación. Los parásitos mencionados, como es bien sabido, son capaces de inducir cuadros serios de diarreas.

Respecto a la inocuidad de la vacuna, ésta puede evaluarse por la escasa frecuen-

cia y la benignidad de las manifestaciones clínicas que se consideraron como posibles efectos secundarios indeseables. En el grupo de los 135 niños que recibieron la vacuna la frecuencia fue de 2.8 por ciento entre las 4 622 ocasiones en que ésta se suministró; en el grupo que recibió placebo, fue de 0.7 por ciento entre 3 258, proporciones que aunque bajas tienen diferencia significativa, con la circunstancia de haberse registrado casi siempre en los primeros días de las semanas de vacunación; esto permite inferir que, habiendo resultado cuatro veces más frecuentes entre los niños del grupo vacuna, correspondieron a reacciones de tipo Schwartzman.

Agradecimientos

Los autores expresan su amplio reconocimiento a la importante participación que tuvieron en la presente investigación a:

Dr. Pedro Solís Cámara. División de Biomatemáticas de la Unidad de Investigación Científica. I.M.S.S.

Dr. Rodolfo Limón L. Laboratorio de Hemodinamia. Hospital General. Centro Médico La Raza. I.M.S.S.

Q.B. Camila Torres del Toro. Departamento de Inmunoglobulinas. Servicio de Hemodinamia. Hospital General. Centro Médico La Raza. I.M.S.S.

Dr. Alfredo Macín. Laboratorio de la Clínica 20. I.M.S.S.

Dra. Rebeca Maldonado. Laboratorio de la Clínica 20. I.M.S.S.

Dr. Luis Marquet Santillán. Hospital General. Centro Médico La Raza. I.M.S.S.

Dra. Estela Ponce de León. Hospital de Infectología. Centro Médico La Raza. I.M.S.S.

Dr. Raúl Villarroel Vargas. Hospital de Infectología. Centro Médico La Raza. I.M.S.S.

Sr. Alejandro Ludlow. División de Biomatemáticas. Unidad de Investigación Científica. I.M.S.S.

Trabajadoras Sociales: Sritas. Esperanza Cavazos, Concepción García, Leticia Camarillo, Luz Vivian, Silvia Rodríguez y Pilar Cantoral.

Los médicos familiares de la Clínica 20. I.M.S.S.

Así mismo expresan su profundo reconocimiento al doctor J. Manuel Sáinz Janini, Jefe de los Servicios Médicos del Instituto Mexicano del Seguro Social en el Distrito Federal y Valle de México, por su autorización y dirección para realizar la investigación y al doctor Daniel Her-

nández Valdez, Director de la Clínica 20 en la fecha en que se llevó a efecto el estudio. Agradecen la colaboración de los médicos residentes del Servicio de Pediatría del Hospital de La Raza, que actuaron durante los años de 1969, 1970 y 1971 y al Q.B. Héctor Lamoglia.

REFERENCIAS

- De la Loza, A. y Saldaña, J. H.: *Cambios importantes en la mortalidad en México*. Rev. Méd. I.M.S.S. 11:113, 1972.
- Ramos Alvarez, M. y Olarte, J.: *Diarrheal diseases of children*. Amer. J. Dis. Child. 107:218, 1964.
- Garibay, L.; Valenzuela, R. H.; Varela, G. y Salas García, R.: *Etiología bacteriana de las diarreas en el niño*. Rev. Mex. Pediat. 29:5, 1960.
- Kretchmer, F.: *Maduración inmunológica en el niño*. En: *Manual de pediatría*. 8a. ed. Valenzuela, R. H.; Luengas, J. y Marquet, L. (Eds.). México, Ed. Interamericana, 1970.
- Sánchez Rebolledo, J. M. y Gutiérrez, G.: *Gastroenteritis*. En: *Manual de infectología*. Kumate, J. y Gutiérrez, G. (Eds.). México, Edic. Méd. Hosp. Infant. 1973.
- Moreno de Vega, F.: *Profilaxis activa anti-infecciosa*. Madrid, Ed. Alhambra, 1968.
- Organisation Mondiale de la Santé: *Les infecciones intestinales*. Rapp. Techn. No. 228, 1964.
- Raettig, H.: *Mechanisms of oral immunization with inactivated microorganisms*. En: Prog. Immunobiol. Stand. Basilea, Karger, 1970, vol. 9.
- Ocklitz, N. W.: *Oral immunization against Shigella and Escherichia coli*. XVIII Internat. Cong. Pediatrics. Viena. 1971, vol. 6, p. 105.
- Mochmann, H.: *Oral vaccine against enteritis*. En: Prog. Immunobiol. Stand. Basilea, Karger, 1970, vol. 9.
- Raettig, H.: *Oral immunization*. Proc. 11th. Internat. Cong. Ass. Microbiol. Milán, 1968.
- Starke, G. y Thilo, W.: *Oral Shigella sonnei vaccine*. En: Prog. Immunobiol. Stand. Basilea, Karger, 1970, vol. 9.
- De Caro, M. y Samarini, E.: *Ricerche sui vaccini antitifici per via orale*. Proc. 11th Internat. Cong. Ass. Microbiol. Milán, 1968.
- Triau, R.: *Essais de préparation d'un orovaccin anticolibacillaire*. En: Prog. Immunobiol. Stand. Basilea, Karger, 1970.
- Barbieri, A.: *Research on the oral antityphoid immunization*. En: Prog. Immunobiol. Stand. Basilea, Karger, 1970.
- Hornick, R. B.: *Typhoid fever*. New Engl. J. Med. 283:737, 1970.
- Dupont, H. L.; Hornick, R. B.; Snyder, M. J. y Formal, S. B.: *Immunity in shigellosis. Protection induced by oral live vaccine*. Infect. Dis. 125:12, 1972.
- Dupont, H. L.: *Vaccination against shigellosis*. Baltimore, Maryland University Ed. 1970.
- Mel, D. M. y Papo, R. G.: *Studies on vaccination against bacillary dysentery*. Bull. Org. Mond. Santé. 32:67, 1965.
- Calderón, S.: Comunicación personal.
- Cavazos, E.: *Estudio socioeconómico de 150 familias derechohabientes de la Clínica 20*. I.M.S.S. Tesis. Escuela de Trabajo Social, México, 1972.
- Edwards, P. R. y Ewing, W. H.: *Identification of enterobacteriaceae*. Nueva York, Burgess Publ. 1955.
- Kaufman, F.: *The bacteriology of Enterobacteriaceae*. Baltimore, The Williams & Wilkins Co. 1965.
- Harris, A. H. y Coleman, M. B.: *Diagnostic procedures and reagents*. Nueva York, Ann. Pub. Helath Ass. 1963.
- Raettig, H.: *Oral immunization with inactivated microorganisms*. En: Prog. Immunobiol. Stand. Basilea, Karger, 1970.
- Ramos Galván, R.: *Desnutrición en el niño*. México, Edic. Méd. Hosp. Infant. 1969.
- Valenzuela, R. H. y Olarte, J.: *Investigación de la flora intestinal del niño durante el primer año de edad*. Bol. Méd. Centro Mat. Inf. "Gral. M. A. Camacho". 1:125, 1950.
- Kumate, J.: *Mecanismos de defensa*. En: *Manual de infectología*. Kumate, J. y Gutiérrez, G. (Eds.). México, Edic. Méd. Hosp. Infant. 1973.
- Valenzuela, R. H.; Luengas, J. y Marquet, L.: *Manual de pediatría*. 8a. ed. México, Ed. Interamericana, 1972.
- Ipsen, J. y Feigl, P.: *Bancroft's introduction to biostatistics*. Nueva York, Harper Internat. 1970.

DATOS PARA LA HISTORIA DE LA GRIPA

El estudio de la gripa presenta gran interés por multitud de motivos. Enfermedad que en México no es endémica, sino que se observa esporádicamente, ha ocasionado bastantes víctimas en sus epidemias, sobre todo en la que principió en Diciembre de 1889, que hizo ascender la mortalidad total á la cifra, enorme para la Municipalidad de México, de 1927 defunciones en un mes.

En la actualidad casi todos los médicos admiten la contagiosidad de la gripa; pero mientras unos la aceptan por contacto directo, otros la niegan y sostienen que se efectúa por un intermedio desconocido, que representa el papel de la deyección albina en el cólera asiático, y otros dudan o niegan el contagio.

Aun admitiendo que la gripa se ocasiona por contacto directo con los enfermos, se tiene que aceptar que ejercen poderosísima influencia los agentes exteriores... como la humedad, las variaciones en la cantidad de ozono en la atmósfera, etc.

A este propósito creo conveniente decir que en México no se ha visto comprobada la observación de Teissier respecto a la humedad atmosférica, ni la de Masson relativa a la presión barométrica, y que sin negar la influencia auxiliar ó contraria que estos elementos puedan tener, es peligroso basarse en observaciones incompletas porque se han limitado á pocos lugares y pocas epidemias, para inferir el papel de un factor supuesto causal. José Terrés: *Datos para contribuir a la historia de la gripa*. GAC. MÉD. MÉX. 33:225-46, 1896.