

Lactancia materna y respuesta humoral contra vacunas de toxoide tetánico y diftérico en niños de 2 años

Deyanira La Rosa,^{1*} Soamy Montesino,¹ Lenia Bezos,² Enrique Gómez,³ Tania Valmaseda,⁴ Alina Alerm,¹ Rolando Ochoa⁴

¹ Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Calle 146 No 2102 esquina 31, Reparto Cubanacán, Playa. CP 11600. La Habana, Cuba.

² Policlínico "Ana Betancourt", Playa. La Habana, Cuba.

³ Dirección Municipal de Salud, Arroyo Naranjo. La Habana, Cuba.

⁴ Instituto Finlay. Centro de Investigación-Desarrollo-Producción de Vacunas. A.P. 16017, Cod. 11600, La Lisa. La Habana, Cuba.

email: deyani@infomed.sld.cu

Teniendo en cuenta que el impacto de la lactancia materna sobre la respuesta a la vacunación es controversial, se evaluó la influencia de la lactancia materna sobre la respuesta humoral a las vacunas con toxoide tetánico y diftérico en niños de 2 años de edad que culminaron la etapa básica de inmunización del esquema de vacunación infantil. Se seleccionaron 44 niños que se diferenciaron en dos grupos de estudios, de acuerdo con el tiempo que fueron amamantados. Para la determinación de las concentraciones de antitoxina diftérica y tetánica se utilizaron ensayos inmunoenzimáticos en fase sólida (ELISA). Al aplicar el test de Student en los resultados obtenidos se constató que recibir la lactancia materna exclusiva por 6 meses o más determinó un incremento en las concentraciones de antitoxina diftérica, mientras que no se evidenciaron diferencias en cuanto a las concentraciones de antitoxina tetánica detectadas entre los niños lactados de manera exclusiva por 6 meses o más, con aquellos lactados por períodos inferiores.

Palabras clave: Lactancia materna, vacunas, toxoide tetánico, toxoide diftérico.

Introducción

Durante su primer año de vida el niño se expone al efecto inmunitario de la lactancia materna y a la vacunación como vías para reducir la incidencia y gravedad de las enfermedades infecciosas (1).

Muchos autores reconocen la leche materna como la primera y más completa de las vacunas que recibe el niño, ya que contiene gran cantidad de componentes inmunológicos, humorales y celulares que garantizan la protección contra los virus, las bacterias y los parásitos (2). Además, la lactancia materna es un inductor de la maduración inmunológica porque provee al lactante de nutrientes, precursores, probióticos, factores antimicrobianos y agentes antiinflamatorios, necesarios para la maduración del sistema inmune. Un sistema inmunitario intacto y maduro incrementa la eficacia de las inmunizaciones (3-5).

Las vacunas, en sentido general, se consideran una herramienta fundamental de los sistemas nacionales de salud y su importancia social se pone de manifiesto en la prevención de enfermedades, ya que constituyen la práctica de salud más segura y de mejor relación costo/beneficio con respecto a las otras terapias farmacéuticas tradicionales (6, 7). Las vacunas inducen una respuesta inmune capaz de eliminar a

los patógenos o neutralizar sus toxinas, y su empleo ha sido decisivo en la reducción de la mortalidad infantil por enfermedades inmunoprevenibles. Por otra parte, la inclusión del toxoide tetánico en las embarazadas ha sido determinante en la prevención del tétanos neonatal (6, 7).

El impacto de la leche humana sobre la respuesta a la vacunación es controvertido, sus efectos se vinculan con la vía de administración de la vacuna y el tipo de inmunógeno vacunal utilizado, no obstante, la leche humana se considera como un adyuvante de la inmunización (8).

El efecto de la leche humana sobre las concentraciones de anticuerpos inducidos por las inmunizaciones es variable (8-12). Se asocia, en la mayoría de los casos, con un incremento en los títulos de seroconversión o con los niveles de seroprotección para aquellas vacunas administradas por vía intramuscular o subcutánea (11-14); mientras que para las vacunas administradas por vía oral la acción es inhibitoria (10), pues disminuye las concentraciones de anticuerpos específicos postinmunización. Hasta el momento no existen nexos establecidos entre la duración y el patrón de lactancia materna recibida con las concentraciones de anticuerpos específicos posvacunales. En Cuba, no se registran investigaciones que evalúen la influencia de la lactancia materna sobre la vacunación. No obstante, a partir de la

* Doctor en Medicina. Especialista de 1er grado en MGI. Especialista de 1er grado en Inmunología. Profesor Instructor.

Cumbre Mundial a favor de la Infancia, en este país se intensifican las acciones sobre la promoción de la lactancia materna exclusiva hasta el sexto mes de vida, como parte del cumplimiento de las estrategias mundiales trazadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (15), y como una consecuencia de estas acciones la mayoría de la población infantil en Cuba recibe la lactancia materna exclusiva desde su nacimiento, la que se mantiene con frecuencia hasta cerca del sexto mes de vida (16, 17).

La difteria y el tétanos son enfermedades prevenibles por vacunas. En los no vacunados la tasa de letalidad oscila entre 5-10% para la difteria y es mayor del 80% para el tétanos neonatal. La inmunización contra estas enfermedades garantiza el mantenimiento de los niveles de antitoxina protectoras en la población (18).

Apoyados en las ventajas inmunológicas de la lactancia materna se podría considerar que las respuestas inmunitarias inducidas por la vacunación se correlacionarían con el tiempo de lactancia materna recibida, de tal manera que aquellos niños que la recibieron por periodos prolongados podrían exhibir concentraciones más elevadas de anticuerpos, y por tanto tener una mayor protección.

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de la duración de la lactancia materna sobre las concentraciones de anticuerpos específicos posvacunación.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio observacional, transversal con 44 niños de 2 años de edad que terminaron la etapa básica del esquema de vacunación con toxoide tetánico y diftérico, pertenecientes a los policlínicos "Ana Betancourt", "Bauta" y "Capri", de La Habana, en el período comprendido desde septiembre de 2009 a junio de 2010. Los niños se dividieron en dos grupos: aquellos que recibieron lactancia materna exclusiva (LME) por menos de 6 meses y los que la recibieron de manera exclusiva durante 6 meses o más. Para la selección de los mismos se siguieron los siguientes criterios.

Criterios de inclusión:

- Tener 2 años de edad.
- Culminar la primera etapa del esquema de vacunación para el toxoide tetánico y diftérico.
- Tener un peso al nacer superior a 2500 g.
- Firma del consentimiento informado (padre o tutor).

Criterios de exclusión:

- Tener diagnóstico de inmunodeficiencia.
- Presentar alguna enfermedad crónica descompensada en el momento de la extracción de sangre.
- Padecer alguna enfermedad infecciosa aguda en el momento de la extracción de sangre.

- Estar bajo tratamiento inmunosupresor (por más de 14 días) u otro tipo de medicamento que modifique el estado inmunológico, excluyendo los esteroides tópicos o por inhalación.
- Padecer alguna enfermedad del sistema hematopoyético (anemias y otras).
- Haber recibido inmunoglobulinas u otros derivados de la sangre en los tres meses precedentes al estudio.
- Uso de algún medicamento experimental 30 días antes del inicio del estudio.
- Tener una temperatura axilar $\geq 37,5$ °C en el momento de la extracción.
- Nacimiento pretérmino.
- Tener antecedentes obstétricos maternos de desnutrición y hábitos tóxicos durante la gestación.

Criterios de salida durante el estudio:

- Uso de algún medicamento experimental durante el desarrollo del estudio.
- Abandono voluntario.

Se citó a los participantes del estudio al policlínico, donde se les realizó de forma personal una encuesta con la información requerida, previa inspección de la historia clínica individual. Posteriormente se efectuó la extracción de sangre (4 mL) por punción venosa en la región yugular; después de retraído el coágulo se centrifugó para obtener el suero, el que se almacenó en viales Eppendorf de 1,5 mL, identificado de forma adecuada para cada uno de los pacientes. Se conservaron a -20 °C hasta el momento de realizar las determinaciones de los anticuerpos antitoxina tetánica (ATT) y antitoxina diftérica (ATD) en el Laboratorio de Inmunoquímica de la Vicepresidencia de Investigaciones del Instituto Finlay. Se utilizaron ensayos inmunoenzimáticos en fase sólida (ELISA), previamente estandarizados y validados (19, 20). Se clasificaron los individuos según la actividad de ATT y ATD en:

- < 0,1 UI/mL: no protegidos adecuadamente
- 0,1-0,9 UI/mL: protección de no larga duración
- $\geq 1,0$ UI/mL: protección de larga duración

Se calcularon las medias geométricas y los intervalos de confianza para cada una de las distribuciones de ATT y ATD después de la transformación logarítmica de las unidades internacionales (UI) de antitoxina.

Para evaluar la normalidad en la distribución de las variables se usó el procedimiento Box-Cox.

La comparación entre las medias de los grupos se realizó mediante la prueba t de Student de una sola cola. Se empleó la prueba Chi Cuadrado en el análisis por rangos de protección. Se consideró un error de primer tipo $\alpha=0,05$.

Tabla 1. Distribución de anticuerpos antitoxina tetánica.

UI/ML	LME < 6M		LME ≥ 6M	
	n	%	n	%
< 0,1	0	0	0	0
0,1-0,9	2	10	6	25
≥1	18	90	18	75
Total	20	100	24	100

LME: Lactancia materna exclusiva.

Resultados y Discusión

La efectividad de las vacunas incluye alcanzar inmunidad contra una enfermedad dada y su mantenimiento por un amplio período de tiempo. Se considera que existe inmunidad contra un microorganismo determinado cuando se demuestra que la concentración de anticuerpos específicos es suficiente para inactivarlo o neutralizar sus toxinas. Para la difteria y el tétano existe una buena correlación entre la protección clínica y la presencia de antitoxinas en el suero (11, 12):

La respuesta detectada frente a la vacuna contra el tétanos fue muy satisfactoria, 100% de protección. Se registraron niveles de protección de larga duración en más del 75% de los niños en ambos grupos (Tabla 1). Estos resultados no ofrecen diferencias con los registrados en otras investigaciones nacionales e internacionales (12, 21).

En esta investigación no se registraron diferencias entre ambos grupos, tanto en el análisis por rangos de protección ($p=0,2591$) (Tabla 1), como entre las medias geométricas de las concentraciones de ATT ($p=0,2947$) (Tabla 2).

La ausencia de diferencias hace inferir que el probado valor inmunopotenciador de la lactancia materna no desempeña un papel definitorio en los niveles de ATT generados en respuesta a la vacunación. Resultados similares se observan en las vacunas orales contra rotavirus (10), donde no se patentiza el efecto de la lactancia materna como un inductor de respuesta a la vacunación. Aunque en este caso pudiera explicarse por la neutralización del inmunógeno vacunal por anticuerpos contenidos en la leche humana.

Consideramos que en esta investigación la ausencia de asociación directa entre los niveles de ATT y la duración de la lactancia materna exclusiva recibida se debe a la potente inmunogenicidad del toxoide tetánico (21, 22).

Al analizar la distribución de ATD según los rangos de protección (Tabla 3), no se detectaron diferencias entre los grupos ($p=0,5745$) y se demostró que alrededor del 30% de los niños tenían niveles no protectores, cifra superior a la registrada por trabajos nacionales e internacionales que señalan entre 8,3% y 18,4% de niños de 2 años con niveles no protectores de ATD, luego de ser inmunizados

Tabla 2. Títulos medios geométricos e intervalos de confianza al 95% según el nivel de antitoxina tetánica.

Lactancia Materna	TMG (UI/mL)	IC 95% (UI/mL)
LME < 6 m	3,45	2,41 – 4,95
LME ≥ 6 m	2,84	1,75 – 4,62

TMG: Títulos medios geométricos.
IC 95%: Intervalos de confianza al 95%.**Tabla 3.** Distribución de anticuerpos de antitoxina diftérica.

UI/ML	LME < 6M		LME ≥ 6M	
	n	%	n	%
< 0,1	6	30	7	29,17
0,1-0,9	10	50	9	37,5
≥1	4	20	8	33,33
Total	20	100	24	100

LME: Lactancia materna exclusiva.

(11-13, 21). Sin embargo, no puede afirmarse la ausencia total de protección en estos casos, ya que cuando se emplea ELISA para la cuantificación de antitoxina, se sugiere emplear 0,1 UI/mL como el valor que delimita una protección confiable, atendiendo a las características de dicha técnica.

Las pruebas de neutralización *in vivo*, consideradas el estándar de oro, ofrecen un nivel de corte mucho menor, en el orden de 0,01 UI/mL (21).

No obstante, se deben tener en cuenta estos resultados, sugerir que se amplíe la población de estudio y proponer se valore un sistema de intervención encaminado a reinmunizar a los niños susceptibles.

Se ha descrito que la lactancia materna exclusiva por más de 6 meses es una condición relacionada con mayores concentraciones de ATD (9), reafirmado en este estudio, ya que aquellos niños que lactaron por períodos mayores de 6 meses tuvieron concentraciones de ATD superiores que aquellos que lo hicieron por períodos menores de 6 meses ($p=0,0466$) (Tabla 4).

Para analizar la influencia de la lactancia materna en la respuesta a la inmunización no solo se debe tener en cuenta la condición en sí de lactar o no, sino que se deben evaluar también otros factores asociados al proceso, como: duración, patrón y ablactación, partiendo de los conocimientos existentes del efecto inmunestimulador de la leche humana sobre la maduración del sistema inmunológico (3-5). Los autores de este trabajo consideran que los resultados pudieran estar relacionados con diferencias en la madurez inmunológica entre los grupos de niños investigados.

Tabla 4. Títulos medios geométricos e intervalos de confianza al 95% según el nivel de antitoxina diftérica.

Lactancia Materna	TMG (UI/mL)	IC 95% (UI/mL)
LME < 6 m	0,26	0,15 – 0,45
LME ≥ 6 m	0,35	0,18 – 0,66

TMG: Títulos medios geométricos.

IC 95%: Intervalos de confianza al 95%

Los resultados obtenidos en este estudio permiten enfatizar la idea del carácter multifactorial de la influencia de la lactancia materna sobre la vacunación, donde no solo intervienen los factores derivados de este proceso, sino que se incluyen los relacionados con la inmunogenicidad y vía de administración de la vacuna.

Se demostró que existe un comportamiento diferente en la respuesta inmunitaria inducida por la vacunación contra la difteria y el tétanos, asociado con el tiempo de lactancia materna exclusiva recibida, de manera tal que aquellos niños que se lactaron de forma exclusiva por más de 6 meses tuvieron una respuesta de ATD mayor que los que no lo hicieron, mientras que no se evidenció diferencias con respecto a la ATT.

Finalmente se debería considerar la realización de estudios inmunoepidemiológicos en una población mayor y explorar la influencia del patrón y duración de lactancia materna sobre otras vacunas.

Agradecimientos

Agradecemos a todos los que contribuyeron con esta investigación, en especial a los trabajadores de los Policlínicos “Ana Betancourt”, “Bauta” y “Capri”, así como a los del Laboratorio de Inmunoquímica de la Vicepresidencia de Investigaciones del Instituto Finlay.

Referencias

1. Beasley A, Amir LH. Infant feeding, poverty and human development. *Int Breastfeed J* 2007;2:14. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1746-4358/2/14>.
2. Field CJ. The Immunological Components of Human Milk and Their Effect on Immune Development in Infants. *J Nutr* 2005;135(1):1-4.
3. Cunningham-Rundles S, Lin H. Role of nutrients in the development of neonatal immune response. *Nutr Rev* 2009;67:152-63.
4. Nguyen M, Leuridan E, Zhang T, De Wit D, Willems F, Van Damme P, et al. Acquisition of Adult-Like TLR4 and TLR9 Responses during the First Year of Life. *PLoS ONE* 2010;5(4). Disponible en: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0010407>
5. Varga I, Toth F, Uhrinova A, Nescakova E, Polar S. Association among size of thymus, anthropometric dimensions and number of lymphocytes in peripheral blood in newborns from Slovakia. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2009;153(3):229-34.
6. Bloom DE, Canning D, Weston M. The Value of Vaccination. *World Economics* 2006;6:15-39.
7. Van den Biggelaar AH, Holt PG. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: neonatal immune function and vaccine responses in children born in low-income versus high-income countries. *Clin Exp Immunol* 2010;160(1):42-7.
8. Dòrea JG. Breastfeeding is an essential complement to vaccination. *Acta Paediatr* 2009;98:1244-50.
9. Pabst HF, Spady DW. Effect of breast-feeding on antibody response to conjugate vaccine. *Lancet* 1990;336:269-70.
10. Moon SS, Wang Y, Shane AL. Inhibitory Effect of Breast Milk on Infectivity of Live Oral Rotavirus Vaccines. *Pediatr Infect Dis J* 2010;5:115-23.
11. West CE, Gothefors L, Granström M. Effects of feeding probiotics during weaning on infections and antibody responses to diphtheria, tetanus and Hib vaccines. *Pediatr Allergy Immunol* 2008;19:53-60.
12. Poovorawan Y, Hutagalung Y, Chongsrisawat. Long-term antibody persistence in children primed and boosted with a DTPw-HBV vaccine at 2, 4, 6, 18, months of age. *Vaccine* 2008;26:1535-40.
13. Kitchen NR, Southern J, Morris R, Hemme F, Thomas S, Watson M, et al. Evaluation of a diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliovirus-Haemophilus influenzae type b vaccine given concurrently with meningococcal group C conjugate vaccine at 2, 3 and 4 months of age. *Arch Dis Child* 2007;92(1):11-6.
14. Silfverdal SA, Ekholm L, Bodin L. Breastfeeding enhances the antibody response to Hib and Pneumococcal serotype 6B and 14 after vaccination with conjugate vaccines. *Vaccine* 2007;25:1497-502.
15. Castillo Belén JR, Rams Veranes A, Castillo Belén A, Rizo Rodríguez R, Cádiz Lahens A. Lactancia materna e inmunidad. Impacto social. *MEDISAN* 2009;13(1). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/san/vol13_1_09/san13109.htm
16. Torre Lozano M. Nuevo patrón de crecimiento infantil de la organización Mundial de la salud basado en lactantes amamantados. *An Paediatr* 2007;66(2):177-83.
17. Peraza G, Pérez S, Figueroa Z. Factores asociados al bajo peso al nacer. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2001; 17(5):490-6.
18. Greenwood B. Maternal immunisation in developing countries. *Vaccine* 2003;21:3436-41.
19. Ochoa R, Martínez JC, Fajardo EM, Álvarez E, Estrada E, García AM, et al. Validación de un ELISA para la cuantificación de antitoxina tetánica en suero humano. *VacciMonitor* 2000;9(4):16-21.
20. Martínez JC, Ochoa R, Cruces A, Fajardo EM, Álvarez E, Ferriol X, et al. Validation of an ELISA for the Quantitation of Diphtheria

- Antitoxin in Human Serum. *Biotecnología Aplicada* 2000;17(3):183-6.
21. Ochoa R, Martínez JC, Ferriol X, Sotolongo F. Niveles de antitoxina tetánica y diftérica en recién nacidos y niños preescolares cubanos *Rev Cubana Med Trop* 2006; 58(1):44-9.
22. Fernández R, Ochoa R, Agüero B. Evaluación de la inmunidad contra el tétanos y la difteria en trabajadores del Instituto Finlay ocupacionalmente expuestos a riesgos. *VacciMonitor* 2004;13(3):13-7.

Breastfeeding and humoral immune response against tetanus and diphtheria toxoid in children of 2 years old

Abstracts

Since the impact of breastfeeding on the response to vaccination is controversial, we studied the effect of breastfeeding on humoral response to tetanus and diphtheria vaccination in two years old children who have ended the immunization basic stage of the vaccination schedule. Forty-four children were selected, they were then divided into two study groups according to the time they were breastfeeding. Solid phase immunosorbent assays (ELISA) were used to determine concentrations of diphtheria and tetanus antitoxin. After applying the Student test to results, it was proved that exclusive breastfeeding for six months or longer showed an increase in the concentrations of diphtheria antitoxin, while there was no difference of tetanus antitoxin concentrations detected among children exclusively breastfed for six months or more, with those breastfed for lesser periods.

Keywords: Breastfeeding, vaccines, tetanus toxoid, diphtheria toxoid.

Recibido: Marzo de 2011

Aceptado: Mayo de 2011