Respuesta inmune humoral a las proteínas de una vacuna antimeningocócica BC en un ensayo realizado en Antioquia, Colombia

Martha Ligia Echeverry Uribe,¹ José A. Malberty Agüero,²
Luis Armando Galeano Marín,³ Franklin T. Sotolongo Padrón,²
Manuel A. Galguera Domínguez,² Cecilia María Montoya Barrientos,³
Rosa Blanco González,² Orfilia Martínez Ruiz,³
Olga M. Martínez Fernández,² Carlos Arturo Aguirre Muñoz,⁴
Luis Izquierdo Pérez,² Luz Marina Alzate de Roldán,⁴
Victoriano G. Sierra González,² Concepción Campa Huergo,²
Inés Bernarda Loaiza Guerra,³ Nora Adriana Montealegre Hernández,³
Santiago Estrada Mesa,² Martha L. Arroyave Cadavid,⁵
Estella Restrepo Gallego⁴ y Beatriz Elena Salazar Sánchez³

Se evaluó la respuesta inmune humoral a proteínas componentes de la vacuna contra meningococos serogrupos B y C producida en Cuba, VA-MENGOC-BC, en adultos y niños de 1 a 5 años de edad de una zona del Departamento de Antioquia, Colombia, en la que se había registrado una incidencia elevada de enfermedad meningocócica. Se estudiaron antes (T_0) y después (T_1) de la vacunación la respuesta sérica antiproteínas vacunales —mediante inmunosorción enzimática (ELISA)— y la capacidad lítica —mediante prueba de anticuerpos bactericidas (PAB). Se realizó una prueba ELISA antes y después de la vacunación en los sueros de 407 adultos y 213 niños. La capacidad lítica frente a una cepa cubana B:4:P1.15 de meningococo se estudió mediante PAB en pares de sueros de 90 adultos y 114 niños. Las dos técnicas mostraron una respuesta estadísticamente significativa ($P < 0,01$) a la vacuna, tanto en adultos como en niños. Del total evaluado por ELISA mostraron inmunorrespuesta a la vacuna ($T_1/T_0 \geq 2$) 81% de los casos (intervalo de confianza del 95%, IC95%: 78 a 84%) con 91% de inmunorrespuesta en los niños (IC95%: 87 a 94%). Todos los niños de 1 año de edad ($n = 7$) respondieron. La seroconversión por ELISA fue en adultos del 80% (IC95%: 73 a 86%) y en niños de 90% (IC95%: 83 a 100%). La PAB demostró seroconversión ($T_1/T_0 \geq 4$) en 85% (IC95%: 78 a 92%) de los seronegativos antes de la vacunación, correspondiendo 85% a los adultos (IC95%: 76 a 95%) y 84% (IC95%: 72 a 96%) a los niños en conjunto. Los niños de 3 y 4 años de edad seroconvirtieron en un 80%. El grupo de sueros de niños de 1, 2 y 5 años disponibles para el estudio por PAB fue pequeño para evaluación estadística; todos ellos seroconvirtieron. En 20 sueros tomados al azar para estudiar su actividad bactericida frente a todas las cepas aisladas de enfermos en Colombia (B:4:P1.15, B:8:P1.nt y dos cepas del serogrupo C) se halló seroconversión en los 20 casos. Estos resultados llevan a pensar que la vacunación produjo en el grupo estudiado una respuesta inmune eficaz desde el punto de vista serológico, corroborada en la práctica por la no detección de casos de enfermedad meningocócica en los vacunados, hasta septiembre de 1994.

¹ Oficina de Epidemiología, Dirección Seccional de Salud, Gobernación de Antioquia, Centro Administrativo Departamental, 8° piso, A.A. 50946, Medellín, Colombia.

² Instituto Finlay, La Habana, Cuba.

³ Dirección Seccional de Salud de Antioquia, Medellín, Colombia.

⁴ Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

⁵ Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín, Colombia.

La enfermedad meningocócica continúa entre las dos primeras causas de infecciones del sistema nervioso central en todo el mundo, con una elevada mortalidad que depende de diversos factores (1). Entre los serogrupos de meningococos causantes de la

enfermedad, el B ha cobrado importancia creciente en muchos países por su mayor frecuencia, desplazando a los serogrupos A y C, hasta ser predominante en algunos brotes epidémicos (2-9).

En los últimos años se ha registrado en Colombia un alza en los casos de enfermedad meningocócica y, en particular en el Departamento de Antioquia, la infección meningocócica ha tomado características epidémicas a partir de 1987, con predominio del serogrupo B como agente causal (10) y con una tasa de mortalidad mucho mayor que la notificada en otros países (11). Esta situación y los resultados de la aplicación en Cuba de la vacuna para la prevención de la enfermedad por meningococos de los serogrupos B y C (vacuna VA-MENGOC-BC) que obtuvo una eficacia de más de 90% para el grupo B, el circulante en Cuba (12), llevaron a la realización de un estudio piloto en una región de alta incidencia de la enfermedad.

Este trabajo presenta los resultados de la evaluación serológica de la respuesta inmune a los componentes proteínicos del serogrupo B de la vacuna VA-MENGOC-BC en una muestra de la población de niños y adultos vacunados. El efecto de la vacuna se evaluó mediante el análisis de inmunorrespuesta por prueba de inmunosorción enzimática (ELISA) y de seroconversión por ELISA y mediante la prueba de anticuerpos bactericidas (PAB). Las pruebas serológicas empleadas brindan información sobre la capacidad del preparado empleado para estimular una respuesta inmune. En particular la PAB, indicadora de protección probada para los meningococos A y C y en estudio para el B, se empleó para conocer la capacidad lítica de los sueros de vacunados sobre cepas de este último serogrupo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Descripción de la muestra

Se incluyeron en el estudio 407 adultos y 213 niños entre 1 y 5 años de edad, de ambos sexos, de un marco muestral de 2201

adultos y 15 411 niños de 3 meses a 5 años de edad vacunados con vacuna VA-MENGOC-BC. Los niños vacunados fueron todos los de 3 meses a 4 años residentes en el municipio, de todos los estratos sociales. Los únicos criterios de exclusión para la vacunación fueron de tipo médico (10).

La muestra de niños se obtuvo a partir del listado de guarderías y hogares comunitarios del municipio de Itagüí, recolectado por el Hospital San Rafael y actualizado en 1990. En total en este aparecen 39 guarderías y 28 hogares. Se contabilizaron 2449 niños de los cuales 2183 están en guarderías y 266 en hogares comunitarios. Esta población de instituciones para la infancia constituye aproximadamente 15% de la población de niños de 1 a 5 años.

Las guarderías y hogares se estratificaron en seis estratos socioeconómicos definidos para el municipio de Itagüí. Cada barrio aparece estratificado en Planeación Metropolitana y se partió del supuesto de que la guardería o jardín correspondía al estrato en el cual el barrio estaba ubicado. La selección de la muestra se realizó en dos etapas. En la primera, con muestreo aleatorio simple y sistemático se eligieron 14 instituciones. En la segunda etapa se obtuvo una muestra de 332 niños distribuidos en los hogares y guarderías elegidos en la etapa anterior. El muestreo no fue aleatorio: se obtuvo sangre de los niños cuyos padres autorizaron la extracción y en los que, además, el procedimiento de sangrado pudo realizarse. En la primera fase, inmediatamente antes de la vacunación, se obtuvieron un total de 341 sueros; en la segunda, 4 semanas después de la segunda dosis de vacuna, 250. De estos, 213 eran sueros correspondientes a niños cuyo suero ya se había obtenido durante la fase prevacunación.

El grupo de 407 adultos incluido en la muestra estuvo constituido por voluntarios del personal de centros de atención sanitaria. Esta muestra forma parte del total de 2201 adultos vacunados, todos ellos voluntarios de instituciones de salud. En la fase prevacunación se obtuvo muestra de sangre de 737 adultos, de 455 de los cuales se extrajo otra muestra posvacunación. Solo se procesaron 407 pares

de muestras, por motivos tales como hemólisis, sueros mal rotulados o pérdidas.

Se realizó el estudio por ELISA con sueros de 213 niños y 407 adultos ($n = 620$). Para la realización de la PAB frente a una cepa cubana B:4:P1.15, se obtuvo una muestra de 127 pares de sueros elegida por muestreo aleatorio simple entre los 620 de la muestra global. La muestra se amplió a 204 sueros al incorporar los restantes sueros de los niños en que la muestra de suero fue técnicamente útil, dado el interés que representa el análisis de este grupo. De los 127 sueros antes mencionados, se eligió por muestreo aleatorio simple un grupo de 20 sueros (15 de adultos y 5 de niños) que se sometieron a una PAB frente a 4 cepas de serogrupo B (dos B:4:P1.15 y dos B:8:P1.nt) aisladas de enfermos residentes en Antioquia, así como a dos cepas serogrupo C aisladas de portadores.

La PAB se realizó en los laboratorios de la División de Neisserias Patógenas del Instituto Finlay, La Habana, Cuba, y el ELISA en el Laboratorio Departamental del Servicio Seccional de Salud de Antioquia, Colombia.

Vacunación

La vacuna VA-MENGOC-BC se había administrado en 1991. El esquema de vacunación fue el indicado por los productores: dos dosis intramusculares de 0,5 mL espaciadas entre sí de 6 a 8 semanas, cada una constituida por 50 µg de polisacárido de meningococo C y 50 µg de proteínas de meningococo B absorbidos en gel de hidróxido de aluminio.

Pruebas serológicas

ELISA. Se cuantificó en los sueros la IgG específica contra las proteínas vacunales del meningococo B mediante ELISA indirecta que brevemente se describe a continuación. Cada pocillo de placas de poliestireno de 96 pocillos (Nunc Maxisorp) se recubrió con 0,1 mL de una solución de 20 µg/mL del complejo proteínico de membrana externa de la cepa B:4:P1.15 de *Neisseria meningitidis* (que es la utilizada en la producción de vacuna VA-MENGOC-BC), en amortiguador carbonato

0,05 M, pH 9,4, y después de incubar de 12 a 16 horas a 4 °C se lavaron tres veces con una solución de Tween 20 al 0,05% (v/v), en H₂O destilada. Las muestras de suero, patrón de concentración y controles de las placas se prepararon en diluyente formado por amortiguador Tris-HCl 0,05 M, pH 8, más Tween 20, 0,05% (v/v) y 5% (v/v) de suero de carnero. El patrón de IgG antimeningococo B (Instituto Finlay) se diluyó de 1:50 a 1:3200 y las muestras de suero y controles, 1:200. Se depositaron 100 µL por duplicado en los pocillos y después de incubar 1 hora a 37 °C se repitieron los lavados y se añadió en cada pocillo el mismo volumen de conjugado antiIgG humana-fosfatasa alcalina (Sigma A 3150) diluido 1:1000. Tras una hora de incubación a 37 °C se lavaron las placas y se añadió a los pocillos 100 µL de una solución de *p*-nitrofenilfosfato (Sigma 104) en amortiguador dietanolamina pH 9,8. Se detuvo la reacción cuando la densidad óptica a 405 nm alcanzó valores de 0,95 a 1,3 en el primer punto de la curva patrón. Las concentraciones se calcularon a partir del patrón, al que se le asigna una concentración de 5000 U/mL. Se empleó el programa de cálculo del Instituto Finlay, basado en una transformación logit-log de los valores.

Prueba de anticuerpos bactericidas (PAB). Se realizó en placas de microtitulación estériles de 96 pocillos y fondo plano. Se añadieron 25 µL de solución de Hanks por pocillo y en la primera hilera se depositó igual volumen de los sueros a estudiar; a partir de esta se hicieron diluciones seriadas. En las dos últimas hileras se añadieron los controles. Seguidamente se depositaron en cada pocillo 25 µL de la suspensión de meningococos previamente titulada y 25 µL del suero humano preseleccionado como fuente de complemento. Se efectuó una primera incubación a 37 °C durante 30 minutos y posteriormente se adicionaron a cada pocillo 125 µL de medio Mueller Hinton con 10% (peso/vol. de disolvente) de agar noble y 10% (v/v) de suero de ternera. Una vez solidificado el agar, se incubó a 35 °C en atmósfera de CO₂ du-

rante 18–24 horas. Finalmente se realizó el recuento de colonias en las muestras y controles. Los resultados se indican por la dilución máxima de cada suero correspondiente a una disminución del recuento de colonias de al menos 50% en relación con el control.

Análisis de los resultados

Se calcularon diversas estadísticas de los resultados en bruto o transformados logarímicamente. Se calcularon intervalos de confianza del 95% (IC95%) para proporciones mediante la fórmula

$$p \pm 1,96\sqrt{p(1-p)/n}$$

y para las medias geométricas (M_g) mediante la exponenciación de los valores obtenidos de la fórmula

$$\ln M_g \pm 1,96 EE,$$

siendo EE el error estándar de los logaritmos neperianos. Se compararon las medias por el procedimiento de datos apareados con el fin de verificar la significación del incremento de los títulos por efecto de la vacunación. Se llevó a cabo un análisis de varianza para observaciones repetidas, con el fin de verificar: a) si hubo un efecto global de la vacunación independientemente del grupo; b) si el incremento $T_0 \rightarrow T_1$ se produce del mismo modo en niños y en adultos.

Mediante análisis de la varianza se compararon las observaciones X_{ik} , Y_{ik} donde X_{ik} e Y_{ik} son respectivamente los valores antes y después de la vacunación del individuo i del grupo k ($k = 1$, niños, $k = 2$, adultos), siempre en escala logarítmica.

Finalmente se calcularon los cocientes T_1/T_0 para el análisis de inmunorrespuesta y seroconversión. Se consideró la existencia de inmunorrespuesta si la ELISA reveló duplicación del valor obtenido en la muestra inicial ($T_1/T_0 \geq 2$); se incluyeron todos los sueros. Para el cálculo de seroconversión por ELISA se incluyeron aquellos sueros que presentaron valores T_0 menores o iguales a 100 U/mL y para la PAB los sueros que fueron negativos en la fase prevacunación por esta prueba. Se con-

sideró que hubo seroconversión cuando se produjo un incremento en la respuesta de una cuadruplicación o más ($T_1/T_0 \geq 4$).

RESULTADOS

La edad en los adultos osciló de 20 a 63 años con una media aritmética de 34 años ($DE = 8$). El cuadro 1 muestra los valores obtenidos en ambas pruebas. Los valores negativos en la PAB se identificaron con valor 1 para realizar los cálculos.

Al analizar el efecto de la vacunación comparando según el procedimiento para observaciones apareadas las medias aritméticas transformadas logarímicamente, los incrementos en ambos grupos por las dos pruebas resultaron altamente significativos ($P < 0,01$). Mediante el análisis de la varianza para observaciones repetidas, se demostró un efecto global de la vacunación independiente de los grupos (PAB: $F_{1, 202} = 31,5$; ELISA: $F_{1, 618} = 618,7$; $P < 0,01$ en ambos casos).

Al realizar el análisis multifactorial de la varianza, entre ambos grupos y los momentos de observación se encontraron diferencias significativas entre adultos y niños en los valores pre y posvacunación (ELISA: $F_{pre, 2, 618} = 5353,6$; $F_{post, 2, 618} = 10700,6$; PAB: $F_{pre, 2, 202} = 127,0$; $F_{post, 2, 202} = 342,0$; $P < 0,01$ en ambos casos). Los niveles posvacunación según ELISA son en los niños mayores que en adultos, a pesar de partir de valores menores en la ELISA prevacunación (cuadro 1). En cambio, según la PAB el efecto de la vacunación en adultos y niños fue semejante.

Cuando se analizaron los resultados en los individuos considerados sin anticuerpos según los resultados prevacunación, se encontró seroconversión en 84% (278/329) del total según ELISA y 85% (77/91) según PAB. El cuadro 2 muestra los resultados globales y estratificados por edades en el grupo de niños. La proporción de seroconversión determinada por ELISA fue mayor en niños (89%, IC95%: 84 a 94%) que en adultos (80%, IC95%: 73 a 86%). Con la PAB se halló seroconversión en 85% del grupo en conjunto (IC95%: 78 a 92%); en los niños la proporción de se-

CUADRO 1. Resultados de las pruebas de inmunosorción enzimática (ELISA) de anticuerpos anti proteínas de la vacuna VA-MENGOC-BC y de anticuerpos bactericidas (PAB) para la cepa meningocócica B:4:P1.15 realizadas antes (T_0) y después (T_1) de la vacunación con VA-MENGOC-BC en niños y adultos de Antioquia, Colombia

	ELISA (U/mL)		PAB (título)*	
	T_0	T_1	T_0	T_1
Adultos				
<i>n</i>	407	407	90	90
Mediana	132	866	1	32
Percentil 25	48	446	1	8
Percentil 75	368	1692	2	64
Media geométrica	152	803	1,8	17,5
IC95%	135 a 170	722 a 893	1,5 a 2,3	12,9 a 23,7
Media de los ln†	5,0	6,7	0,6	2,9
Desviación estándar	1,2	1,1	1,1	1,4
Niños				
<i>n</i>	213	213	114	114
Mediana	53	1823	2	16
Percentil 25	35	905	1	4
Percentil 75	95	3034	4	64
Media geométrica	69	1642	2,2	15,3
IC95%	59 a 81	1371 a 1966	1,91 a 2,53	11,7 a 20,2
Media de los ln	4,2	7,4	0,8	2,7
Desviación estándar	1,1	1,33	0,8	1,5
Total				
<i>n</i>	620	620	204	204
Mediana	95	1062	2	16
Percentil 25	39	532	1	4
Percentil 75	95	3034	4	64
Media geométrica	116	1032	2,04	16,1
IC95%	106 a 203	937 a 1137	1,8 a 2,3	13,2 a 19,7
Media de los ln	4,8	6,9	0,7	2,8
Desviación estándar	1,2	1,2	0,9	1,5

* Título = $1/d$, siendo d la máxima dilución a la que ocurre el fenómeno.

† ln = logaritmo (neperiano) en base e.

CUADRO 2. Resultados de seroconversión (cuadruplicación de un título inicial) respecto a proteínas de la vacuna VA-MENGOC-BC de los sueros inicialmente seronegativos según la prueba de inmunosorción enzimática (ELISA, $T_0 \leq 100$ U/mL) o la prueba de anticuerpos bactericidas (PAB, $T_0 \leq 1$). Niños y adultos vacunados con VA-MENGOC-BC en Antioquia, Colombia

Edad	Inmunosorción enzimática (ELISA)		Prueba de Ac bactericidas (PAB)		
	No. seronegativos iniciales ($T_0 \leq 100$)	Sero-conversión	No. seronegativos * iniciales ($T_0 \leq 1$)	Sero-conversión	
	No.	%	No.	%	
Niños					
1 año	6	6	100	3	100
2 años	17	14	82	3	100
3 años	46	43	94	9	75
4 años	79	69	87	15	80
5 años	18	16	89	4	100
Total	166	148	89	37	84
Adultos	163	130	80	54	85
Total	329	278	84	91	85

CUADRO 3. Proporción de inmunorrespuesta determinada por ELISA a las proteínas vacunales (VA-MENGOC-BC) del meningococo B, en relación al número total de sujetos vacunados investigados en Antioquia, Colombia

Edad (años)	No. sujetos estudiados	Inmunorrespuesta	
		No.	%
Niños	1	7	100
	2	24	79
	3	65	91
	4	96	93
	5	21	90
<i>Total niños</i>	<i>213</i>	<i>193</i>	<i>91</i>
Adultos	407	309	76
<i>Total</i>	<i>620</i>	<i>502</i>	<i>81</i>

roconversión (84%, IC95%: 72 a 96%) fue ligeramente menor que en los adultos (85%, IC95%: 76 a 95%). En cuanto a las respuestas positivas a la vacuna, determinadas por ELISA (cuadro 3), se hallaron en 91% de los niños (IC95%: 87 a 94%), 76% de los adultos (IC95%: 72 a 80%) y 81% del grupo en conjunto (IC95%: 78 a 84). Este análisis no se realizó para los resultados de la PAB, ya que las imprecisiones propias del método no permiten discriminar con certeza entre dos diluciones sucesivas. Si se analiza el grupo de niños por edades (cuadro 3), todas ellas muestran un nivel de respuesta por ELISA de 79% o mayor, si bien algunos grupos son muy pequeños y, en

CUADRO 4. Media aritmética de los títulos pre (T_0) y posvacunación (T_1) en la prueba de anticuerpos bactericidas (PAB) en los sueros de 20 individuos vacunados en Antioquia, Colombia, frente a cepas procedentes del país

Cepa*	T_0	T_1
B:4:P1.15 (316)	1,80	66,4
B:4:P1.15 (322)	2,05	62,4
B:8:P1.nt (373)	3,95	48,0
B:8:P1.nt (351)	2,10	58,4
C (338)	1,35	65,6
C (345)	1,35	32,4

* Entre paréntesis identificación local de la cepa.

concreto, el de 1 año de edad en el que hubo 100% de respuesta, solo estaba integrado por 7 niños.

En la PAB contra cepas aisladas en Colombia se halló actividad bactericida y seroconversión en los 20 pares de sueros estudiados (cuadro 4).

DISCUSIÓN

Es posible que las muestras de suero evaluadas no sean perfectamente representativas de la población vacunada, ya que se obtuvieron de voluntarios que solicitaron participar en el estudio y, en cuanto a población infantil, solo se estudiaron muestras de niños cuyos padres dieron su autorización para la extracción de sangre.

Las pruebas de laboratorio para evaluar la respuesta inmune a las vacunas contra *N. meningitidis* indican la presencia de anticuerpos específicos contra los componentes vacunales (que en nuestro caso se estudió mediante ELISA) o brindan información sobre la capacidad bacteriolítica del suero. Entre las pruebas para evaluar la capacidad destructiva del suero frente a la bacteria, la PAB es la internacionalmente aceptada para asignar capacidad protectora a la respuesta estimulada por las vacunas ya establecidas de polisacáridos de meningococo (13). No está establecida definitivamente una prueba que determine la protección contra *N. meningitidis* serogrupo B, ya que los anticuerpos contra meningococos B no son bactericidas para todas las cepas y esta actividad parece ser tipo-específica y por tanto muy variable entre diferentes cepas (14). Se ha demostrado que la deficiencia de algunos componentes del sistema del complemento está relacionada con la aparición de enfermedad meningocócica a repetición (15), por lo que se considera que los mecanismos de defensa antimeningococo son dependientes del complemento, bien mediante lisis directa anticuerpo-dependiente, bien mediante opsonización (16-18). Por ello, la PAB y la quimioluminiscencia para medir la fagocitosis son las pruebas más utilizadas para evaluar la inmunidad contra meningo-

cocos B, siendo la PAB la de mayor difusión hasta el momento (19–22). En estudios previos realizados en el Instituto Finlay, en Cuba, aún no publicados, hemos encontrado una buena correlación entre ambas pruebas, aunque ninguna de ellas tiene un carácter predictivo sobre los resultados que se obtienen en la otra, lo cual era de esperar debido a sus características correspondientes a los componentes que participan en la reacción por parte del suero en estudio o de las células bacterianas o antígenos extraídos de las mismas.

En el presente estudio se encontraron niveles prevacunales bajos o nulos de anticuerpos, tanto por ELISA como por PAB, en más del 50% de los sueros, lo que acompañado del incremento de la incidencia de enfermedad en el área, pudiera representar un riesgo elevado de diseminación de la misma. Si bien no se ha demostrado para la meningitis meningocócica una relación entre los niveles de anticuerpos en la población y la aparición de brotes epidémicos, el incremento de la enfermedad en la zona durante la época del estudio implica un aumento de la circulación bacteriana en una población con elevada susceptibilidad debido a la carencia de anticuerpos protectores (11, 23, 24) lo que podría además influir en el elevado índice de mortalidad reportado, superior al encontrado en otras regiones. Si consideramos la PAB como prueba que por el momento brinda mejor información sobre el estado de protección contra *N. meningitidis* serogrupo B, los niveles de respuesta a la vacuna encontrados en la muestra de sueros estudiados reflejan una buena inmunogenicidad y protectogenicidad del preparado empleado. Para el estudio de seroconversión se emplearon sueros de individuos carentes de anticuerpos antes de la vacunación por ser esta la forma más directa de evaluar el efecto producido por la vacuna. También se hizo un análisis de inmunorrespuesta, pues independientemente del estado inmune previo en relación con el meningococo B, es de esperar que una vacuna con buena inmunogenicidad logre incrementos de los efectores de la respuesta inmune en una proporción mayoritaria de la población va-

cunada. Los valores de seroconversión e inmunorrespuesta obtenidos en el estudio son coherentes con los alcanzados en otros grupos donde se ha empleado esta vacuna (11).

La posibilidad de una respuesta más enérgica en los niños es un elemento de mucha importancia, ya que la incidencia de la enfermedad meningocócica es más elevada en estos. Nuestros resultados por ELISA, aunque lo que medimos fue IgG específica, no necesariamente reflejan protección y, de hecho, el no encontrar diferencias importantes con los resultados de la PAB en los adultos puede traducir la presencia de algunos anticuerpos que, por causas no bien determinadas, son "no funcionales". En estudios previos realizados en el Instituto Finlay encontramos en adultos una respuesta contra los componentes proteínicos de la vacuna en la que eran predominantes las subclases IgG1 e IgG3 que son activadoras de la vía clásica del complemento.⁶ Es necesario estudiar los isotipos participantes en la respuesta de estos niños así como la especificidad de los anticuerpos producidos contra los diferentes componentes proteínicos presentes en la vacuna.

La respuesta inmune en los niños es dependiente de la edad debido entre otros factores al menor estímulo inmunogénico al que en general han estado expuestos y además a que tienen niveles de inmunoglobulinas inferiores a los del adulto (25). Esta circunstancia y la inmunogenicidad variable de los preparados hacen que algunas vacunas como las de polisacáridos sean poco inmunogénicas en niños pequeños (1, 18, 26). La respuesta de los niños a vacunas preparadas a partir de los componentes de la membrana externa de *N. meningitidis* serogrupo B es poco conocida debido al limitado número de estudios en seres humanos realizados con tales preparados.

⁶ Ferriol X. ELISA para la detección de subclases de IgG anti-proteínas de VA-MENGOC-BC: Determinación de la presencia de IgA e IgM específicas contra esos componentes de la vacuna. La Habana: Instituto Finlay; 1992. (Trabajo de Diploma.)

Como resultado de los estudios de la aplicación de la vacuna VA-MENGOC-BC en Cuba a partir de los 3 meses de edad se han publicado informes tanto de la eficacia como de la potencia de esta vacuna (12, 27). Considerando la proporción de inmunorrespuesta en cada subgrupo, en este trabajo no se encontraron diferencias entre los grupos de edad estudiados. En la muestra no hubo lactantes y tanto el grupo de 1 año de edad estudiado respecto a seroconversión por ELISA como los grupos de 1 y 2 años estudiados por PAB fueron muy reducidos, por lo que deben relativizarse las conclusiones que se pueden alcanzar en relación con la respuesta en los vacunados en estas edades. La inexistencia de nuevos casos entre los vacunados hasta septiembre de 1994 que ha sido notificada en otras publicaciones (28) y en las estadísticas de la Dirección Seccional de Salud de Antioquia es un indicador del efecto positivo de la vacunación en esta zona donde existía un alza evidente de la enfermedad.

La capacidad bactericida contra cepas aisladas de enfermos de Colombia que se encontró en los 20 sueros analizados es un elemento adicional que puede reflejar la utilidad preventiva y la cobertura antigénica de la vacuna empleada contra la enfermedad meningocócica en esta región. La capacidad bactericida hallada prueba que la vacunación estimuló una respuesta protectora al menos contra las cepas de meningococo aisladas de enfermos del área, en individuos que previamente no presentaban o tenían valores muy bajos de anticuerpos bactericidas.

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten concluir que la vacuna VA-MENGOC-BC produjo un incremento significativo de la respuesta de IgG y de la actividad bactericida en los individuos estudiados, independientemente de la edad. Las conclusiones respecto a los niños de 1 y 2 años de edad en los que la respuesta fue sustancial han de relativizarse por el pequeño número de sueros estudiados. La respuesta de IgG contra proteínas en los niños fue más intensa que en los adultos. No así la observada mediante la PAB, lo que puede reflejar la existencia de una respuesta cualitativa y cuantitativa-

mente diferente o dependiente de la edad, lo cual merece estudiarse. Los resultados de la PAB apuntan hacia un nivel de protección semejante en ambos grupos. La seroconversión lograda con la vacunación es similar a la obtenida en Cuba con la aplicación de VA-MENGOC-BC (12).

AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento a las técnicas Iovagna Bravo y Aida Arnet, del Instituto Finlay, cuya labor fue garantía de calidad del trabajo de laboratorio.

REFERENCIAS

1. Frasch CE. Vaccines for prevention of meningococcal disease. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2Suppl:5134.
2. Scholten RJPM, Bijlmer HA, Poolman JT, Kuipers B, Caugant DA, Van Alphen L, Valkenburg HA. Meningococcal disease in the Netherlands, 1958-1990: a steady increase in the incidence since 1982 partially caused by new serotypes and subtypes of *Neisseria meningitidis*. *Clin Infect Dis* 1993;16: 237-246.
3. Caugant D, Frøholm LO. Genetic structure and epidemiology of serogroup B *Neisseria meningitidis*. En: Achtman M, Kohl P, Marchal C, Morelli G, Seiler A, Thiesen B, eds, *Neisseriae 1990*. Berlín: Walter de Gruyter; 1991: 37-42.
4. Demina AA, Devjatkina NP, Martynov Yu V, Koroleva IS. Two epidemiological types of meningococcal infection incidence caused by serogroup B meningococci. En: Achtman M, Kohl P, Marchal C, Morelli G, Seiler A, Thiesen B, eds. *Neisseriae 1990*. Berlín: Walter de Gruyter, 1991, 43-47.
5. Käythy H, Poolman JT, Abdillahi H, Sivonen A, Eskola J, Tarka E, Peltola H. Sero- and subtypes of group B meningococci causing infections in Finland in 1976-87. *Scand J Infect Dis* 1989;21:527-535.
6. Poolman JT, Jonsdottir K, Lind JM, Frøholm LO, Zanen HC. Meningococcal serotypes and serogroup B disease in North-West Europe. *Lancet* 1986;2:555-558.
7. Cartwright KAV, Stuart JM, Noah ND. An outbreak of meningococcal disease in Gloucestershire. *Lancet* 1986;2:558-561.
8. Lystad A, Aasen S. The epidemiology of meningococcal disease in Norway 1975-1991. *NIPH Ann* 1991;14:57-66.

9. Valcarcel M, Rodríguez R, Terry H. *La enfermedad meningocócica en Cuba: cronología de una epidemia*. 2a ed. ECIMED: La Habana; 1989:126.
10. Colombia, Sistema Nacional de Salud, Servicio Seccional de Salud de Antioquia. Estudio para la aplicación de la vacuna VA-MENGOC-BC en Antioquia, Colombia: Informe final. Medellín, Colombia, julio de 1992.
11. Peltola H. Meningococcal Disease: still with us. *Rev Infect Dis* 1983;5:71.
12. Sierra VG, Campa C, Valcarcel M. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. *NIPH Ann* 1991;14:195.
13. WHO Expert Comitee on Biological Standardization: Requirements for meningococcal polysaccharide vaccine. Geneva: 1976; World Health Organization (Serie de informes técnicos 594).
14. Kasper DL, Winkelhake JL, Brandt BL, Artenstein MS. Antigen specificity of bactericidal antibodies in antisera of *Neisseria meningitidis*. *J Infect Dis* 1973; 127: 378-87.
15. Nicholson A, Lepow IH. Host defence against *Neisseria meningitidis* requires a complement-dependent bactericidal activity. *Science* 1979;205: 298-9.
16. Lehmann AK, Halstensen A, Naess A, Vollset SE, Sjursen H, Bjune G. Immunization against serogroup B meningococci. Opsonin response in vaccinees as measured by chemiluminescence. *APMIS* 1991;99:69-77.
17. Ross SC, Rosenthal PJ, Berberich HN, Densen P. Killing of *Neisseria meningitidis* by human neutrophils: implications for normal and complement-deficient individuals. *J Infect Dis* 1987; 155: 1266-1275.
18. Fredlund H, Sjöholm AG, Selander B, Holström E, Olcén P, Danielsson D. Serum bactericidal activity and induction of chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes: complement activation pathway requirements in defense against *Neisseria meningitidis*. *Int Arch Allergy Immunol* 1993;100:135-143.
19. Rosenqvist E, Tjade T, Frøholm LO, Frasch CE. An ELISA study on the antibody response after vaccination with a combined meningococcal group B polysaccharide and serotype 2 outer membrane proteins vaccine. *NIPH Ann* 1983;6:139.
20. Skevakis I, Frasch CE, Zahradnik JM, Dolin R. Class-specific human bactericidal antibodies to capsular and non capsular surface antigens of *Neisseria Meningitidis*. *J Infect Dis* 1984;149:387.
21. Zollinger WD, Mandrell RE. Importance of complement source in bactericidal activity of human antibody and murine monoclonal antibody to meningococcal group B polysaccharide. *Infect Immun* 1983;40:257-264.
22. Mandrell RE, Zollinger WD. Human immune response to meningococcal outer membrane protein epitopes after natural infection or vaccination. *Infect Immun* 1989;57:1590-1598.
23. Goldschneider I, Gotschlich EC, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus. The role of humoral antibodies. *J Exp Med* 1969;129: 1307-26.
24. Estabrook MM, Baker CJ, Griffis IM. The immune response of children to meningococcal lipopoligosaccharides during disseminated disease is directed primarily against two monoclonal antibody-defined epitopes. *J Infect Dis* 1993; 167:966-70.
25. Stites D. Clinical laboratory methods for detection of antigens and antibodies (Ch. 17). En: Stites P, Stobo JD, Wells JB, eds. *Basic and clinical immunology*. 7a ed. Los Altos, CA: Appleton and Lange; 1987: 241.
26. WHO Program for Vaccines Development and Transdisease Vaccinology. Activities and prospects 1989: 47. Ginebra.
27. Monto AS, Brandt BL, Artenstein MS. Response of children to *Neisseria meningitidis* polysaccharide vaccines. *J Infect Dis* 1973;127:394-400.
28. Sierra VG, Campa C, García L, Sotolongo F, Izquierdo L. Efficacy evaluation of the Cuban vaccine VA-MENGOC-BC against disease caused by serogroup B *Neisseria meningitidis*. En: Achtman M, Kohl P, Marchal C, Morelli G, Seiler A, Thiesen B, eds. *Neisseriae* 1990. Berlin: Walter de Gruyter; 1991:129-34.