

# Estudio de cepas de *Neisseria meningitidis* circulantes en la Argentina 1991-1993 y ensayo de sueros de vacunados con una vacuna antimeningocócica de origen cubano contra cepas de los diferentes serotipos y subtipos causantes de enfermedad.

Mabel Regueira \*, Silvia Palmerio \*, María Mercedes Gutiérrez \*\*, Antonio Malberty \*\*, Franklin Sotolongo \*\* y Ana M. García \*\*.

## Introducción

Las cepas virulentas de *Neisseria meningitidis* causantes del 90% de los casos de enfermedad meningocócica en el mundo, correspondieron a los serogrupos A, B, y C. Los dos últimos tienen relación con epidemias, mientras que el primero sólo aumenta en epidemias. En los últimos años, países como Cuba, Brasil, Colombia, Chile, Argentina y Uruguay, experimentaron aumentos de meningitis meningocócica causada por el serogrupo B, especialmente en niños menores de 5 años de edad.

Entre las décadas del '60 y del '70, comenzaron a aparecer vacunas antimeningocócicas que contenían polisacáridos capsulares de este grupo bacteriano. La eficacia de las mismas variaba con la edad. Mientras que la vacuna contra el serogrupo A confirió protección en niños mayores de 6 meses, aquella que contenía el componente correspondiente al serogrupo C no fue inmunógena en niños menores de 2 años, según los estudios de eficacia realizados. La vacuna antimeningocócica B, fue muy poco inmunógena, en cualquier grupo etáreo, sin lograr la protección adecuada.

Posteriormente comenzaron a realizarse estudios que emplearon proteínas de la membrana externa de *Neisseria meningitidis* sero-

grupo B y otros antígenos de superficie, para lograr el desarrollo de una vacuna efectiva contra este serogrupo. De acuerdo a este esquema, algunos países como los Estados Unidos, Noruega y Cuba, comenzaron a desarrollar vacuna antimeningocócica grupo B.

Las vacunas más recientes contienen las proteínas de la membrana externa del serogrupo B, el polisacárido capsular del serogrupo C y como adyuvante, hidróxido de aluminio.

En el marco de estos estudios, desde el año 1991, el Instituto Malbrán de Argentina y el Instituto Finlay de Cuba, acordaron un convenio de colaboración científica que incluía la caracterización de las cepas de *N. meningitidis* circulantes en nuestro país, con identificación de serogrupo, serotipo y subtipo, y la evaluación *in vitro* de la respuesta inmune a la vacuna VA-MENGOCC BC de origen cubano, frente a un número de aislamientos representativos de la casuística observada en los últimos tres años.

## Material y métodos

### A) Caracterización de aislamientos de *N. meningitidis*

Fue estudiada una muestra (n = 159) altamente representativa del total de cepas aisladas (n = 310) de enfermos con enfermedad meningocócica en Argentina. Están representadas las cepas de meningococo serogrupo B y C, de las distintas regiones geográficas del país (Santa Fe, Misiones, La Pampa, Neuquén, Mendoza, Buenos Aires, Capital Federal, etc).

\* Instituto Nacional de Microbiología "Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina.

\*\* Instituto Finlay, La Habana, Cuba

Estudio de cepas de *Neisseria meningitidis* circulantes en la Argentina 1991-1993 y ensayo de sueros de vacunados con una vacuna antimeningocócica de origen cubano contra cepas de los diferentes serotipos y subtipos causantes de enfermedad.

Regueira, Palmerio, Gutiérrez, Malberty, Sotolongo y García.

La clasificación realizada estuvo basada en la determinación de serogrupo, serotipo y subtipo, empleando técnicas de aglutinación en lámina con sueros monovalentes: extracción de proteínas de membrana externa (antígeno de serotipo: STA) y corrida electroforética en gel de poliacrilamida (PAGE) (1) y enzoinmunoensayo (ELISA) de células bacterianas completas frente a anticuerpos monoclonales (2).

### B) Estudios de seroconversión y poder bactericida,

Se estudiaron sueros pareados de niños cubanos de distintos grupos etáreos vacunados con la vacuna VA-MENGOC-BC, enfrentados a aislamientos de Argentina, mediante la determinación de inmunoglobulina G específica (IgG) y del poder bactericida. Los sueros vaccinales fueron tomados a t=0, muestra previa a la vacunación y t=1, muestra tomada 30 días después de la segunda dosis.

La metodología empleada para el estudio de la respuesta inmune fue el ELISA, utilizando como primer adsorbente un extracto proteico de los aislamientos, a modo de evidenciar la estimulación de anticuerpos específicos, no solamente contra el serotipo homólogo (cepa vaccinal B4.P1.15), sino también contra otros serotipos (3,4). Se estudiaron para la presencia de anticuerpos IgG específicos contra proteínas de *N. meningitidis* 45 sueros de adultos, 32 sueros de niños de 1 a 5 años y 38 de niños de 6 a 8 meses de edad. Estos sueros fueron enfrentados a 42 cepas de *N. meningitidis* serogrupo B abarcando las combinaciones de serotipos y subtipos aislados más frecuentemente.

Se realizó también la determinación de anticuerpos bactericidas y su actividad contra varias cepas de diferentes serotipos y subtipos de *N. meningitidis* serogrupo B y serogrupo C, procedentes de Argentina (5). Los ensayos de poder bactericida se efectuaron en sueros pareados de los siguientes grupos etáreos: de 1 a 5 años: n = 20; de 7 a 14 años: n = 30; y adultos jóvenes: n = 15. La prueba bactericida se realizó en medio sólido (Agar Muller Hinton) y se utilizó complemento humano previamente

testado y libre de actividad bactericida específica.

### Resultados

En Argentina se observó un predominio de *N. meningitidis* serogrupo B durante los años 1991 a 1993, aunque en 1993 se observó un aumento del serogrupo C. (Tabla I)

El análisis del serotipo de 159 aislamientos de *N. meningitidis* serogrupo B, se muestra en la Tabla II.

El serotipo predominante fue el B:2b, seguido del B no tipable. Cabe destacar la aparición en 1993 del serotipo B:14.

En relación con los subtipos se observó una variedad de los mismos, predominando el P1.10 y el P1. no tipable. (Tabla II)

En la Tabla III se muestran los resultados de las densidades ópticas promedio, con su correspondiente desviación standard de esos grupos de sueros frente a cepas que representan las combinaciones más frecuentes encontradas en los aislamientos de Argentina.

El volumen de suero de los lactantes menores de 1 año de edad no permitió realizar el estudio en las últimas 3 combinaciones de serotipos y subtipos señaladas. Todas las ce-

**Tabla I**

#### Meningitis bacteriana: Casos positivos diagnosticados en el Instituto Nacional de Microbiología "Carlos G. Malbrán"

Gérmenes	1991 n = 61	1992 n = 156	1993 n = 331
<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b	21 (35%)	70 (45%)	30 (9%)
<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo B	32 (52%)	67 (43%)	205 (62%)
<i>Neisseria meningitidis</i> Serogrupo C	0	5 (3%)	40 (12%)
<i>Neisseria meningitidis</i> (otros Serogrupos)	0	2 (1%)	6 (2%)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	8 (13%)	12 (8%)	50 (15%)

**Tabla II**  
**Estudio de serotipos y subtipos de Neisseria meningitidis Serogrupo B**  
**aislados en Argentina**

Serotipos	1991 n = 25		1992 n = 55		1993 n = 79	
	n	%	n	%	n	%
B : 2b	18	72	35	65	40	51
B : 4	2	8	4	7	8	10
B : NT	4	16	8	14	23	29
B : 15	1	4	8	14	5	6
B : 14	-	-	-	-	3	4

**Subtipos prevalentes:** P1 . 10  
P1 . NT  
P1 . 7, 16  
P1 . 14  
P1 . 16

**Combinaciones predominantes:** B : 2b . P1 . 10  
B : 2b . P1 . NT  
B : NT . P1 . NT  
B : 15 . P1 . 7, 16

**Referencias:**  
NT: No tipificable

**Tabla III**  
**Reconocimiento por ELISA en Sueros de vacunados con VA - MENGOC - BC, de IgG**  
**específica contra antígenos de serotipo (STA) de cepas de Neisseria meningitidis**  
**aisladas de pacientes en Argentina.**

Cepas	Absorbancia a 405 nm.					
	Niños 6 - 8 m. n = 38		Niños 1 - 5 a. n = 32		> 15 a. n = 45	
	Suero Problema	Suero Control	Suero Problema	Suero Control	Suero Problema	Suero Control
B:2b P1.10	0.380 ± 0.168	0.174	0.490 ± 0.182	0.182	0.904 ± 0.246	0.117
B:15 P1.16	0.690 ± 0.341	0.116	0.734 ± 0.022	0.136	0.972 ± 0.304	0.135
B:NT P1:14	0.529 ± 0.078	0.185	0.435 ± 0.054	0.234	0.627 ± 0.130	0.210
B:NT P1.15	0.698 ± 0.063	0.186	0.842 ± 0.051	0.180	0.976 ± 0.265	0.186
B:4 P1.NT	0.958 ± 0.153	0.180	0.808 ± 0.083	0.160	1.017 ± 0.284	0.132
B:NT P1.NT	NR	NR	0.423 ± 0.027	0.134	0.428 ± 0.093	0.135
B:15 P1.7.16	NR	NR	0.473 ± 0.145	0.114	0.738 ± 0.182	0.107
B:14 P1.NT	NR	NR	0.279 ± 0.029	0.182	0.517 ± 0.179	0.175

NR: No realizado por falla de muestras

Tabla IV

**Detección de anticuerpos bactericidas en sueros vacunales cubanos frente a cepas de *Neisseria meningitidis* serogrupo B de diferentes serotipos y subtipos y *Neisseria meningitidis* serogrupo C, aislados en Argentina**

cepas	Grupos etáreos		
	1-5 años	7-14 años	adultos jóvenes
	n = 20	n = 30	n = 15
B:2b . P1.10	3	8	32
B:14 . P1.10	2	4	16
B:2b . P1.NT	2	3	32
B:NT . P1.14	4	6	8
B:15 . P1.7, 16	**	3	64
C (49 / 93)	3	1024	1024
C (51 / 93)	3	1024	384

Los resultados se expresan en mediana del título bactericida de sueros post-vacunación con respecto a tiempo 0 (previo a la vacunación)

\*\* Esta determinación no se realizó por falta de muestra.

pas se enfrentaron a un suero control, carente de anticuerpos, como referencia.

En cuanto a este estudio, se confirma la detección de anticuerpos específicos de clase IgG contra todos los serotipos.

En la Tabla IV, se resumen los resultados expresados en mediana de título bactericida de sueros post-vacunación con respecto a tiempo 0, observándose la presencia de anticuerpos con actividad bactericida en los sueros de los diferentes grupos etáreos contra todas las cepas empleadas en el ensayo, lo que demuestra el poder lítico de los sueros contra todos los serotipos y subtipos de los meningococos del serogrupo B, así como contra el meningococo del serogrupo C.

## Conclusiones

Con respecto a la clasificación de cepas se confirma el predominio del serogrupo B y un aumento del serogrupo C en la última etapa. En cuanto a los serotipos del serogrupo B correspondientes al período 1991-1993, el orden de prevalencia es el siguiente:

### Serotipos

B:2b .....	63%
B no tipable .....	20%
B:4 .....	8%
B:15 .....	8%
B:14 .....	1%

Los resultados de laboratorio demuestran que las cepas de *N. meningitidis* serogrupo B que fueron estudiadas, resultaron lisadas por anticuerpos bactericidas presentes en los sueros de vacunados con VA-MENGOC-BC en las diferentes edades. Esto demuestra que la vacuna no sólo es capaz de inducir la formación de anticuerpos contra la cepa vacinal B4.P1.15, sino también contra otros serotipos de *N. meningitidis* serogrupo B.

Sin embargo es de destacar que de acuerdo a nuestros resultados en el grupo de menores de 4 años, la respuesta inmune tanto a nivel de anticuerpos específicos (IgG) como de anticuerpos bactericidas, aumenta en menor proporción después de la vacunación que en los niños mayores. (Tabla III y IV)

Hasta este momento no se conoce cuál es el nivel de anticuerpos protectores para esta patología.

Con respecto al meningococo serogrupo C, se concluye que hay respuesta bactericida en los sueros vacunales probados, enfrentados a cepas aisladas en Argentina.

Este estudio, aunque parcial por el bajo número de sueros probados, demuestra que la vacuna en estudio produce respuesta inmune específica variable, contra los serogrupos B y C de *N. meningitidis*, dependiendo de los grupos etáreos.

---

**Bibliografía**

1. **Mocca L, Frasch C:** Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide gel typing system for characterization of *Neisseria meningitidis* isolates. *Journal Clin Microb* 6: 240-244, 1982
  2. **Abdillahi H, Poolman J:** *Neisseria meningitidis* group B serosubtyping using monoclonal antibodies in Whole-Cell ELISA. *Microbiol Pathogenesis* 4:27-32, 1988
  3. **Black CM, Plikaytis BD, Wells TW, Ramirez RM, Carlone GM, Chilmonczyk BA, Reimer CB:** Two-site immunoenzimometric assays for serum IgG subclass infant/mother ratios at full term. *J Immunol Methods* 106: 71-81, 1988
  4. **Plikaytis BD et al:** Program ELISA. User's Manual. Molecular Biology Laboratory. Meningitis and Special Pathogens Branch. Centers for Disease Control (CDC) Atlanta, USA
  5. **Kapczynski D, Harakeh H, Carlone G:** *Neisseria meningitidis* serogroup B bactericidal assay. Division of Bacterial and Mycotic Diseases. National Center for Infectious Diseases. Centers for Disease Control (CDC) Atlanta, USA 1993
-