



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Editorial

Microbiología y salud pública: nuevos retos en vigilancia y control de la enfermedad meningocócica

Microbiology and public health: new challenges in surveillance and control of meningococcal disease

Raquel Abad y Julio A. Vázquez*

Laboratorio de Referencia de Meningococos – Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología – Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, ESPAÑA

Los nuevos retos que se plantean en el control de la enfermedad invasiva meningocócica ponen de relieve el papel básico que van a tener los datos de laboratorio y cómo la microbiología desempeña un papel fundamental (exclusivo, pero no excluyente) en Salud Pública para la toma de decisiones.

En una editorial de esta misma revista hace algunos años¹ veíamos cómo la aplicación de nuevas vacunas de polisacárido conjugadas con proteínas transportadoras podía conducirnos a medidas de intervención eficaces, y, por lo tanto, rentables (criterios ambos muy de actualidad en nuestro mundo sanitario). El éxito de estrategias de intervención con vacunas conjugadas ha sido muy significativo, particularmente en el caso de enfermedad por *Haemophilus* tipo b, pero también en neumococo y en meningococo de serogrupo C. Lógicamente, cuanto más homogénea sea la población del microorganismo y/o menor variabilidad presente el antígeno vacunal, más sencillo será obtener un buen resultado en la aplicación de programas de inmunización con este tipo de vacunas. En el caso de meningococo de serogrupo C, hemos aprendido un gran número de aspectos relevantes, tales como que la memoria inmune conferida no es suficientemente rápida como para proteger frente a una enfermedad como la meningocócica, de muy rápida evolución, por lo que sólo la presencia de un nivel adecuado de anticuerpos circulantes protege frente a la enfermedad². Esta observación, junto con una pérdida de protección en niños más rápida de lo esperado³, ha hecho que se produzcan diversos cambios en los esquemas de vacunación utilizados, con el objetivo de mantener un aceptable nivel de anticuerpos con actividad bactericida en adolescentes y niños, particularmente en los menores de un año. Pero, sin duda, la observación más relevante ha sido la del efecto de la vacuna conjugada en el estado de portador⁴. El impacto de la vacuna reduciendo significativamente el porcentaje de portadores de meningococo C en nasofaringe ha permitido seleccionar como población diana el grupo de adolescentes, identificado como principal grupo de edad clave en la transmisión del microorganismo, de forma que su inmunización ha reducido drásticamente la circulación de meningococos

de grupo C, lo que protege indirectamente a aquellos otros grupos que no reciben vacuna⁵. Sin duda, un buen número de lecciones aprendidas en todo este tiempo, pero que, como siempre pasa en el mundo de la ciencia, algunas preguntas consiguen respuestas más o menos satisfactorias y muchas otras conducen a nuevos interrogantes no resueltos. Todas las observaciones que se han comentado son rigurosamente ciertas para las cepas de serogrupo C del complejo clonal ST-11. Esta línea genética de meningococo se caracteriza por ser hipervirulenta (asociada muy frecuentemente a enfermedad invasiva), por tener un alto nivel de expresión de la cápsula⁴ (lo que favorece que sean especialmente susceptibles a los anticuerpos antipolisacárido⁶) y por su baja frecuencia en portadores asintomáticos, incluso en momentos de brote/onda epidémica⁷. Por lo tanto, si bien es previsible que cepas de serogrupo C de otras líneas clonales diferentes tengan un comportamiento similar frente a las mismas vacunas conjugadas, características particulares de estas otras líneas clonales podrían llevar consigo respuestas diferentes frente a dichas vacunas. Así, en años recientes, asistimos a un elevado incremento de cepas de serogrupo C del complejo clonal ST-103, particularmente en Brasil⁸, aunque ha sido también observado crecientemente en Polonia⁹. Este complejo clonal ha sido asociado a la aparición de brotes en ambos países, y en Brasil está ligado a un gran incremento en las tasas de incidencia de enfermedad. Esto ha provocado que las autoridades sanitarias introduzcan vacuna conjugada monovalente frente a serogrupo C en su programa de inmunización rutinaria en 2011, lo que sin duda constituye un magnífico escenario para observar el comportamiento de esta vacuna con un complejo clonal diferente al ST-11 CC. De hecho, en este mismo número de la revista ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGÍA CLÍNICA aparece un trabajo que describe la caracterización molecular de cepas de serogrupo C ST-103 CC asociadas a un brote en Bahía¹⁰, demostrando el potencial de esta línea clonal para producir brotes. De hecho, este mismo CC ha sido asociado con un brote de gran entidad en la ciudad de Río Verde, Estado de Goias, en el medio oeste de Brasil¹¹, que muestra que estas cepas siguieron circulando tras vacunación masiva con vacuna de polisacárido purificado A+C. Algunos estudios muestran que cepas del ST-103 CC estarían presentes de forma significativa en portadores asintomáticos en una mayor proporción que las cepas

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jvazquez@isciii.es (J.A. Vázquez).

del ST-11 CC (Comunicación personal de Ana P Lemos del Instituto Adolfo Lutz de Sao Paulo en Brasil). Estos hallazgos podrían llevar asociada una respuesta diferente frente a vacuna conjugada de C, especialmente en términos de magnitud del impacto de la inmunización en portadores asintomáticos, modificando entonces los resultados obtenidos y la eficacia de la intervención con esta vacuna.

Punto y a parte merece la vacuna frente al serogrupo B. Después de más de 40 años de espera, es inminente la llegada de una vacuna frente a cepas de serogrupo B, que sin duda va a constituir un paso fundamental en el control de la enfermedad. Hemos visto cómo estrategias más o menos clásicas de vacunología han servido para desarrollar vacunas eficaces frente al serogrupo C, y también frente a otros serogrupos (A, Y y W135)¹², utilizando el polisacárido capsular como antígeno vacunal. Sin embargo, esta estrategia está prácticamente descartada en el caso del serogrupo B, porque su estructura bioquímica, muy semejante a la de la envuelta de células neuronales humanas, podría generar problemas de autoinmunidad¹. Por lo tanto, desde distintas aproximaciones, se ha intentado desarrollar una vacuna eficaz frente a este serogrupo utilizando algunos antígenos/estructuras conocidas, incluyendo la utilización de vesículas de membrana externa (OMV), proteínas fijadoras de hierro, PorA, etc.^{13–15}. De estas, la estrategia de utilizar OMV ha dado como resultado vacunas de aceptable eficacia en niños mayores de 4 años, si bien confirmando protección homóloga frente a la cepa origen de la vacuna, pero no heteróloga frente al resto de cepas¹⁶, lo que limita en gran forma su utilidad a epidemias y brotes, no estando indicada en situaciones de endemia. No obstante, incluso con esta gran limitación, su utilidad ha sido puesta de manifiesto particularmente en el control de una onda epidémica en Nueva Zelanda, asociada a una cepa de subtipo P1.4, frente a la que prácticamente se diseñó una vacuna de OMV a la carta¹⁷ que ha tenido un impacto positivo en el control de la situación. Sin embargo, el control de la enfermedad endémica sigue representando un desafío no resuelto. Y, como muchas veces ha pasado en el mundo científico, el desarrollo de una vacuna compleja vino de la mano de la innovación, de la aplicación de una nueva estrategia denominada «vacunología inversa». Esta metodología tiene como punto de partida el conocimiento de la secuencia completa del genoma de *Neisseria meningitidis*¹⁸, que se analiza mediante programas informáticos con el objetivo de identificar genes que codifiquen para antígenos potencialmente utilizables en formulaciones vacunales. Los antígenos seleccionados presentan un grado aceptable de conservación, lo que permite manejar una de las más acusadas características del genoma de meningococo, que es su elevada plasticidad, regulada en el microorganismo mediante diversos y complejos mecanismos de regulación genética. Esta primera selección de antígenos sufre un proceso de evaluación mediante su capacidad de expresión en *Escherichia coli*¹⁸, identificando un número de 350 antígenos que se expresan en este microorganismo. Cada uno de estos antígenos es entonces purificado y utilizado para inmunizar ratones, en los que se analiza la respuesta de anticuerpos funcionales, esto es, con capacidad bactericida. Este nuevo paso en el cribado de antígenos conduce a una selección de 91 proteínas, que una vez más pasan a un proceso de selección mediante confirmación de su localización en la membrana externa, y su capacidad de inmunogenicidad, con lo que el procedimiento finalmente selecciona tan sólo 3 antígenos, conocidos como fHbp (factor de fijación del factor H del suero humano), NHBA (factor de fijación de heparina) y NadA (adhesina de *Neisserias*), que son parte de la formulación vacunal definitiva de la vacuna multicomponente desarrollada¹⁹. La composición final de esta novedosa vacuna incluye los 3 antígenos mencionados (dos de ellos, el fHbp y NHBA, en forma de proteínas de fusión con otras proteínas acompañantes) más las vesículas de membrana externa utilizadas en el desarrollo de la vacuna que se utilizó en Nueva

Zelanda, y que incluye un tipo de proteína PorA P1.4. La inclusión de estas vesículas de membrana aumenta el rango de cepas frente a las que la vacuna puede ser efectiva, y genera una mejor respuesta frente a los otros 3 antígenos por un mecanismo no bien conocido²⁰. Hasta ahora la eficacia de las vacunas frente a una enfermedad como esta, de baja incidencia, que impide realizar ensayos clínicos de eficacia por la necesidad de un gran número de participantes, ha sido asumida a través de parámetros subrogados de protección, y, en el caso de la enfermedad meningocócica, a través de los resultados obtenidos en ensayos de actividad bactericida del suero (SBA). Sin embargo, los ensayos de SBA han sido utilizados para demostrar la inmunogenicidad de esta nueva vacuna frente a serogrupo B, enfrentando los sueros de individuos inmunizados con las 4 cepas de las que se habían obtenido los diferentes antígenos incluidos en la formulación vacunal¹⁹. Ahora bien, la realización de ensayos clínicos para medir eficacia protectora en general, tal y como se ha hecho con vacunas de polisacárido conjugado, no es viable. En el caso de evaluación de vacunas de polisacárido, el antígeno es común a todas las cepas de ese serogrupo, por lo que los sueros son enfrentados a una única cepa que expresa ese antígeno. En el caso de la vacuna de 4 componentes frente a serogrupo B, cada suero habría que enfrentarlo a cientos de cepas que expresarían todas o la gran mayoría de variantes antigénicas posibles, lo que, sin duda, es inviable. Para dar respuesta a esta importante limitación surge entonces la metodología que se conoce con el nombre de Meningococcal Antigen Typing System (MATS)²¹, que combina un ensayo inmunoenzimático (ELISA) específico frente a cada uno de los antígenos vacunales, detectando diferencias cualitativas y cuantitativas en la expresión de dichos antígenos; se mide, pues, tanto la reactividad cruzada inmunológica como la cantidad de antígenos NHBA, NadA y fHbp. Adicionalmente se incluye la información del subtipo de PorA para incluir la cobertura potencial también con este antígeno. Los resultados obtenidos con el ELISA se han correlacionado con la lisis de las cepas en ensayo SBA, encontrándose que los aislados que superan un valor de umbral en la prueba ELISA para cualquiera de los 3 antígenos de la vacuna tienen $\geq 80\%$ de probabilidad de ser neutralizados por el suero inmune en el ensayo de SBA. Aquellas cepas que resultan positivas para dos o más antígenos tienen una mayor probabilidad (96%) de ser lisadas en presencia de sueros de individuos inmunizados. El ensayo de MATS permite analizar grandes paneles de cepas y predecir la cobertura potencial de la vacuna. El desarrollo de un ensayo simple y de alto rendimiento que se correlaciona con la actividad bactericida constituye un hito en el desarrollo de vacunas frente a meningococo, y su utilidad podría ampliarse en el futuro, a la evaluación de nuevas vacunas basadas en proteínas frente a otros microorganismos. El único inconveniente de esta nueva técnica de evaluación es su compleja validación con el objetivo de producir resultados repetitivos y extrapolables entre laboratorios, lo que ha llevado a que sólo los Laboratorios Nacionales de Referencia de un limitado número de países (Alemania, Australia, Brasil, Canadá, España, Estados Unidos, Francia, Italia, Noruega y Reino Unido) hayan sido validados para su aplicación. Los resultados iniciales de cobertura potencial en Europa indican que esta nueva vacuna podría tener un 75% de cobertura en las cepas asociadas con casos clínicos. En España, que tuvo una incorporación tardía a este Consorcio Internacional, el análisis aún no ha finalizado, y aunque los datos de cobertura podrían estar en cifras similares, aún debemos esperar a contar con datos definitivos.

Esta vacuna está en proceso de evaluación en la Agencia Europea de Medicamentos, y, con gran probabilidad, recibirá la autorización para su uso en los primeros meses de 2012. Sin embargo, aún hay un gran número de interrogantes que deberán irse resolviendo, incluyendo su posible impacto en portadores asintomáticos, la posibilidad de ser usada también frente a otros serogrupos que expresen estos mismos antígenos (¿podríamos hablar entonces de una vacuna universal frente a enfermedad meningocócica?),

duración de la inmunidad conferida, etc. Sólo nuevos estudios podrán dar respuesta a estos interrogantes, pero queda evidente la cada vez más importante implicación de la microbiología en el desarrollo y seguimiento de nuevas medidas de control de Salud Pública con nuevos e innovadores productos, lo que, sin duda, supone un reto importante para los laboratorios de microbiología.

Bibliografía

- Vázquez JA. El desarrollo de vacunas frente a meningococo: un largo, tortuoso y aún inacabado camino. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2002;20:313–5.
- Borrow R, Findlow J. Prevention of meningococcal serogroup C disease by NeisVac-C. *Expert Rev Vaccines.* 2009;8:265–79.
- Larrauri A, Cano R, García M, Mateo S. Impact and effectiveness of meningococcal C conjugate vaccine following its introduction in Spain. *Vaccine.* 2005;23:4097–100.
- Maiden MC, Ibarz-Pavón AB, Urwin R, Gray SJ, Andrews NJ, Clarke SC, et al. Impact of meningococcal serogroup C conjugate vaccines on carriage and herd immunity. *J Infect Dis.* 2008;197:737–43.
- Pollard, Andrew J. Global epidemiology of meningococcal disease and vaccine efficacy. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23 Suppl 12:S274–9.
- Ibarz-Pavón AB, MacLennan J, Andrews NJ, Gray SJ, Urwin R, Clarke SC, et al. Changes in serogroup and genotype prevalence among carried meningococci in the United Kingdom during vaccine implementation. *J Infect Dis.* 2011;204:1046–53.
- Fernández S, Arreaza L, Santiago I, Malvar A, Berrón S, Vázquez JA, et al. Impact of meningococcal vaccination with combined serogroups A and C polysaccharide vaccine on carriage of *Neisseria meningitidis* C. *J Med Microbiol.* 2003;52:75–7.
- de Lemos AP, Yara TY, Gorla MC, de Paiva MV, de Souza AL, Gonçalves MI, et al. Clonal distribution of invasive *Neisseria meningitidis* serogroup C strains circulating from 1976 to 2005 in greater Sao Paulo, Brazil. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1266–73.
- Kadlubowski M, Wasko I, Kalrowicz A, Hryniewicz W. Invasive meningococcal disease at a military base in Warsaw, January 2007. *Euro Surveill.* 2007;12. Disponible en: <http://www.eurosurveillance.org>
- Gorla MC, de Lemos AP, Quaresma M, Vilasboas R, Marques O, de Sá MU, Ogassavara CT, et al. Phenotypic and molecular characterization of serogroup C *Neisseria meningitidis* associated with an outbreak in Bahia, Brazil. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30:2–5.
- Iser BP, Lima HC, De Moraes C, De Almeida RP, Watanabe LT, Alves SL, et al. Outbreak of *Neisseria meningitidis* C in workers at a large food-processing plant in Brazil: challenges of controlling disease spread to the larger community. *Epidemiol Infect.* 2011;30:1–10.
- Pace D, Pollard AJ, Messonnier NE. Quadrivalent meningococcal conjugate vaccines. *Vaccine.* 2009;27 Suppl 2:B30–41.
- Frasch CE. Meningococcal vaccines: past, present and future. En: Cartwright K, editor. *Meningococcal disease.* West Sussex: John Wiley & Sons Ltd; 1995. p. 245–83.
- Gómez JA, Ferreiros CM, Criado MT. Vacunas polisacarídicas antimeningocócicas. *Enf Inf Microbiol Clin.* 1997;15:347–8.
- Van der Ley P, Van der Biezen J, Poolman JT. Construction of *Neisseria meningitidis* strains carrying multiple chromosomal copies of the porA gene for use in the production of a multivalent outer membrane vesicle vaccine. *Vaccine.* 1995;13:401–7.
- Poolman JT, Feron C, Dequesne G, Denoël PA, Dessoy S, Goraj KK, et al. Outer membrane vesicles and other options for a meningococcal B vaccine. En: Ferreiros C, Criado MT, Vázquez J, editores. *Emerging strategies in the fight against meningitis.* Inglaterra: Horizon Scientific Press; 2002. p. 135–49.
- Oster P, Lennon D, O'Hallahan J, Mulholland K, Reid S, Martin D. Immunogenicity MeNZB: a safe and highly immunogenic tailor-made vaccine against the New Zealand *Neisseria meningitidis* serogroup B disease epidemic strain. *Vaccine.* 2005;23:2191–6.
- Rappuoli R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. *Vaccine.* 2001;19:2688–91.
- Giuliani MM, Adu-Bobie J, Comanducci M, Aricò B, Savino S, Santini L, et al. A universal vaccine for serogroup B meningococcus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006;103:10834–9.
- Findlow J, Borrow R, Snape MD, Dawson T, Holland A, John TM, et al. Multicenter, open-label, randomized phase II controlled trial of an investigational recombinant Meningococcal serogroup B vaccine with and without outer membrane vesicles, administered in infancy. *Clin Infect Dis.* 2010;51:1127–37.
- Donnelly J, Medini D, Boccadifuoco G, Biolchi A, Ward J, Frasc C, et al. Qualitative and quantitative assessment of meningococcal antigens to evaluate the potential strain coverage of protein-based vaccines. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:1940–5.