

ESTUDIOS SOBRE LA EFECTIVIDAD DE LA VACUNA. DISEÑOS Y METODOLOGÍA.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LABORATORIO DE ESTUDIOS DE PROTECCIÓN TRAS LA VACUNA

Sonsoles Berrón Morato, Juan Carlos Sanz Moreno, Elena Martín García, Celia Salcedo Peláez, María Pilar Bermudez Saugar y Julio A. Vázquez Moreno.

Laboratorio de Referencia de Meningococos. Centro Nacional de Microbiología-Instituto de Salud Carlos III.
Ministerio de Sanidad y Consumo.

Tras la vacunación con vacuna polisacárido frente a *Neisseria meningitidis* A+C, se obtiene una respuesta de anticuerpos polisacárido específicos hacia las dos semanas después, alcanzándose los niveles máximos de anticuerpos inducidos al mes de la vacunación¹. En el momento actual, los dos métodos más ampliamente aceptados para conocer *in vitro* los niveles de seroconversión y «traducir» de ellos la protección adquirida son: medida de actividad bactericida del suero y medida de anticuerpos totales polisacárido-específicos.

Es de una gran importancia la determinación de la inmunidad natural presente en la población diana antes de la vacunación, con objeto de poder «cuantificar la protección debida a la inmunización». En este sentido, la colonización de la mucosa nasofaríngea por meningococo estimula la producción de anticuerpos circulantes al cabo de 8-10 días. No obstante, la tasa de portadores de meningococos de serogrupo C es demasiado baja (datos no mostrados) como para explicar la mayoría de la inmunidad natural que, en algunas zonas, puede alcanzar entre un 10 y un 15%. La explicación más factible debe

ser la de inmunización vía contacto con otras bacterias que produzcan reactividad cruzada y, muy especialmente, con *N. lactamica*², especie frecuentemente encontrada en la nasofaringe en los primeros años de vida.

La importancia de la actividad bactericida en la protección conferida por la vacuna se refleja en:

Hay una clara inducción de dicha actividad justo después de la vacunación.

Se observa una clara correlación inversa entre la presencia de actividad bactericida y la incidencia de la enfermedad en los diferentes grupos etarios.

Hay un alto incremento de incidencia de enfermedad meningocócica en familias con déficits genéticos en el sistema del complemento.

Así pues, con estas premisas, el método de elección para la determinación de los niveles de seroconversión es desde 1976 la medida de actividad bactericida, según recomendaciones de la OMS³. Posteriormente, ante el variado número de protocolos que estaban siendo utilizados, lo que implicaba una pobre extrapolación de resultados de un laboratorio a otro, se decidió estandarizar un protocolo de determinación de actividad bactericida, finalmente publicado en 1997⁴, que es

Correspondencia:
Julio A. Vázquez Moreno
Centro Nacional de Microbiología
Instituto de Salud Carlos III
Majadahonda
28220 Madrid

el aceptado en este momento. Según dicho protocolo, en el que se definen todos los reactivos y controles a utilizar, se estima como nivel protector un título $\geq 1:8$, si bien han habido diversos autores que han utilizado un punto de corte ligeramente inferior ($\geq 1:4$); debe quedar claro que la actividad que se mide es inespecífica, esto es, no es necesariamente fruto de anticuerpos anti-polisacárido. Aunque lo ideal sería utilizar en la determinación el complemento intrínseco del suero problema, el protocolo define expresamente la utilización de complemento exógeno, de cría de conejos, lo que puede resultar en títulos ligeramente superiores a los que se obtendrían de otra forma⁽⁴⁾; e igualmente, la utilización de una cepa diferente a la recomendada (C11) puede producir resultados diferentes. Por último, es importante reseñar que es indispensable la utilización de sueros control de amplio consenso para la unificación de los resultados. En estos momentos, en los análisis de actividad bactericida que el Laboratorio de Referencia de Meningococos del Instituto de Salud Carlos III está llevando a cabo, en colaboración con diversas Comunidades Autónomas (Andalucía, Cantabria, Extremadura, Madrid y Murcia), se incluye cada día un suero control de título conocido suministrado por el CDC de Atlanta, controles de complemento sin suero, para eliminar actividad bactericida no atribuible al mismo y controles de suero sin complemento. Sólo se utilizan lotes de complemento de cría de conejo testados en paralelo por el CDC y por nuestro Laboratorio.

El método alternativo para evaluar la seroconversión tras la vacunación es la medición de anticuerpos totales inducidos. Esta medición ha sido realizada por un amplio número de técnicas, pero en este momento se suele realizar mediante enzimoimmunoensayo, con polisacárido C como soporte de unión de los posibles anticuerpos presentes en el suero⁵. Si bien en este caso, los anticuerpos que se miden sí son específicos frente a polisacárido C, su funcionalidad no se concreta, de tal forma

que la correlación entre la determinación de actividad bactericida y la medida de anticuerpos totales puede no ser siempre buena. Es decir, hay que contemplar la posibilidad de unión de los llamados «anticuerpos de baja afinidad» que no son funcionales desde el punto de vista de protección y que pueden dar lugar a «falsos niveles de protección». Así mismo, la eficacia de unión del polisacárido C con el plástico del soporte es muy baja, por lo que se utiliza seroalbúmina humana metilada que, ocasionalmente, provoca unión inespecífica de anticuerpos presentes en el suero. La técnica es muy laboriosa y presenta una baja reproducibilidad, ya que cada suero debe ser ensayado en duplicado en 8 diluciones dobles, permitiéndose un coeficiente de variación intraensayo $<20\%$, lo que muchas veces no se cumple. En este caso, el nivel más ampliamente considerado como protector es la presencia de más de 2 $\mu\text{g/ml}$.

Debe mencionarse el hecho de que la respuesta inmunitaria frente a la infección meningocócica implica la producción de anticuerpos que estimulan la actividad bactericida, pero también la de anticuerpos que promueven la fagocitosis⁷ y, por lo tanto, puede haber otros factores influyendo en el grado de protección inferida, además de los que en este momento estamos analizando. Los propios autores de la elaboración del protocolo aceptado en este momento para la determinación de actividad bactericida⁴ recuerdan que *el título absoluto o el incremento en el título de actividad bactericida entre los sueros pre y post vacunales necesarios para proteger frente a meningitis meningocócica de serogrupo A y C es desconocido e igualmente recogen el hecho de que la identificación de anticuerpos bactericidas en suero puede no dar una respuesta definitiva a la protección frente a la enfermedad. Sólo estudios inmunogénicos en conjunción con estudios de eficacia clínica determinarán si de verdad hay una buena correlación entre la actividad bactericida y la protección frente a la enfermedad meningocócica.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Brandt BL, Artenstein MS, Smith CD. Antibody response to meningococcal polysaccharide vaccines. *Infection Immun* 1973; 8(4): 590-596.
2. Griffiss JMCL. Mechanisms of host immunity. En: *Meningococcal disease*. Chichester. UK: John Wiley & Sons Ltd; 1995. p. 35-70.
3. World Health Organization. Requirements for meningococcal polysaccharide vaccine (requirements for biological substances n.º 23). *WHO Tech Rep Serv* 1976; 594: 72-73.
4. Maslanka SF, Gheesling IJ., Libutti DE, et al. Standardization and multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bactericidal assays. *Clin Diag Lab Immunol* 1997; 4(2): 156-167.
5. Gheesling LL, Carlone GM, país LB et al. Multicenter comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup C anti-capsular polysaccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1994; 32(6): 1475-1482.
6. Griffiss JMCL, Apicella MC, Greenwood B, Mäkelä PH. Vaccines against encapsulated bacteria: a global agenda. *Rev Infect Dis* 1987; 9: 176-188.