

INMUNIDAD NATURALMENTE ADQUIRIDA AL MENINGOCOCO B DURANTE EL PRIMER AÑO DE VIDA

HOSPITAL PEDIATRICO DOCENTE "WILLIAM SOLER"
LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA DE MENINGOCOCO

Dr. Orlando González Cisneros,* C. Dr. Eric Martínez Torres,** C. Dr. Gustavo Sierra González,*** Lic. Concepción Campa Huergo,**** Lic. Luis García Imia***** y Lic. Jesús del Valle Rosales*****

RESUMEN

Se estudiaron 29 lactantes de Alamar (municipio Habana del Este) nacidos de julio a septiembre de 1985, a quienes se les determinaron mediante ELISA los niveles de anticuerpos circulantes contra el meningococo B, a diferentes edades del primer año de vida. Existió una excelente correlación entre los títulos maternos (generalmente elevados) y los de sus hijos recién nacidos. Estos títulos descendieron inicialmente y de nuevo se elevaron durante diferentes edades como expresión de la inmunidad activa del niño, adquirida naturalmente por estimulación antigénica del medio. La mayoría de los lactantes (88,8 %) mostró elevación de títulos durante algún momento del primer año y de éstos, la mayoría lo hizo durante el segundo trimestre de vida. Durante cada periodo precedente a la elevación de dichos títulos se encontró con frecuencia que los niños habían presentado fiebre y síntomas respiratorios o digestivos.

* Especialista de I Grado en Pediatría. Hospital Pediátrico Docente "William Soler".

** Vice-Director Docente, Hospital Pediátrico Docente "William Soler" Profesor Auxiliar de Pediatría.

*** Especialista de I Grado en Inmunología. Laboratorio Nacional de Referencia de Meningococo, La Habana.

**** Licenciado en Bioquímica. Laboratorio Nacional de Referencia de Meningococo.

***** Licenciado en Física. Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología.

INTRODUCCION

Se conoce como inmunidad adquirida naturalmente a aquella que se produce por una exposición al antígeno ocurrida al azar, en contraposición a la inmunidad adquirida como resultados de una inmunización deliberada.¹

En otros países se ha investigado la aparición de la inmunidad humana adquirida naturalmente al meningococo,^{2,3} pero este campo ha permanecido inexplorado en nuestro país, excepto el estudio serológico realizado a convalecientes de esta enfermedad.⁴

El anticuerpo tiene un efecto dramático en la fagocitosis: cuando los microbios están recubiertos con inmunoglobina específica, existe una gran facilitación en la eliminación de los microorganismos del torrente sanguíneo.⁵

Asimismo, se ha comprobado que la destrucción de bacterias recubiertas de anticuerpos es menos efectiva en animales a los cuales se ha depletado de complemento: esto señala el sinergismo que existe entre los anticuerpos y el complemento para la opsonización, que es mediada por receptores específicos⁶ y de alta afinidad para la IgG y para C₃⁷ de la superficie fagocítica.

La inmunidad a la infección por neumococos, meningococos y Hemophilus influenzae constituye un buen ejemplo de actuación de los anticuerpos para neutralizar las propiedades antifagocíticas de las cápsulas bacterianas. También los anticuerpos circulantes neutralizan las toxinas solubles liberadas por bacterias.

La unión del anticuerpo cerca del sitio biológicamente activo de toxina bloquearía estereóquímicamente la reacción con el sustrato. La toxina, si está combinada con el anticuerpo, puede ser incapaz de difundir con rapidez y puede también ser susceptible de fagocitosis.⁵

La enfermedad meningocócica continúa siendo un problema mundial^{7,8} y nacional⁷⁻¹⁰ y existe necesidad en nuestro medio de profundizar en su conocimiento. Por esa razón se llevó a cabo la presente investigación, con el propósito de contribuir al conocimiento de la inmunidad al meningococo en la población infantil cubana.

MATERIAL Y METODO

Se estudió el grupo de niños integrado por los 29 recién nacidos del sector E del Policlínico Docente Alamar, que nacieron a partir del 1.º de julio de 1985 hasta el 30 de septiembre del mismo año.

A todos los niños se les determinó periódicamente los niveles de anticuerpos contra el meningococo (por el método de inmunoenzimático ELISA) se les realizó el primer examen antes de los 15 días de vida; se tomó conjuntamente una muestra de sangre a la madre. A partir de este momento se le titularon los niveles de anticuerpos trimestralmente.

Cada toma de sangre capilar fue de 0.5 mL, la cual fue centrifugada y decantada para obtener el suero, luego se sometió a congelación hasta que

fueron procesadas en el Laboratorio Nacional de Referencia de Meningococo, donde se determinaron los niveles de anticuerpos contra la proteína de la membrana externa de este germen con la utilización del método ELISA.

Además de las tomas de sangre en los periodos ya señalados, se les realizaron a estos niños exudados nasofaríngeos que se sembraron en medio de Thayer Martin (para detectar neisserias) y coprocultivos.

Conjuntamente con estas investigaciones en cada consulta se anotaron en un expediente clínico confeccionado a cada niños los aspectos clínicoepidemiológicos relevante ocurridos en el periodo precedente a cada consulta.

Posteriormente se estableció la correlación clinicoserológica según etapa. Se buscó la media de los títulos de anticuerpos de las madres y de los recién nacidos y se precisó si guardaban relación, se agruparon los lactantes de acuerdo con el trimestre de vida en que se produjo la elevación de los títulos de anticuerpos y se correlacionaron los hallazgos de laboratorio con los datos clínicoepidemiológicos, para precisar si la elevación de anticuerpos contra el meningococo estuvo asociada a algún evento significativo.

DESCRIPCION DEL METODO DE LABORATORIO: METODO INMUNOENZIMATICO (ELISA).

Esta técnica se realiza en placas desechables de poliestireno de 96 posiciones de fondo plano. En el primer paso se añade una solución de proteínas de la membrana externa del meningococo a una concentración de 10 µg/mL en buffer carbonato-bicarbonato al pH de 9.6 (100 microlitros por pocillo).

Esta placa se incuba toda la noche a temperatura ambiente en cámara húmeda y al día siguiente se lava con agua destilada que contiene 0.5 mL de tween20/litro de agua (solución fijadora). Luego se colocan las muestras de suero en una dilución apropiada con PBS (buffer) con 5 % de suero de ternera (medio de cultivo) y 0.1 % de tween-20 (solución fijadora-conservación) en nuestros casos la dilución fue de 1 en 50; luego de colocar las muestras, estas placas se incuban 4 horas a temperatura ambiente. Al transcurrir este tiempo, las placas son lavadas de nuevo de igual forma y el paso siguiente es añadirle el conjugado diluido en el mismo buffer en el cual se diluyeron las muestras: el conjugado utilizado fue anti-IgG humana (producida en carnero) con fosfatasa alcalina como enzima (en este caso comercial de la marca SIGMA) a la dilución de 1 en 1 000; estas placas se vuelven a incubar 2 horas a temperatura ambiente en cámara húmeda y se lavan de nuevo como en los casos anteriores.

Para poder hacerlas medibles y observar la reacción que ha ocurrido en el pocillo, se añade una solución de paranitrofenilfosfato (que es el sustrato de la enzima) a una concentración de 1 mg/mL en buffer de distanol-amina (pH: 9.8) y se deja reaccionar durante 30 minutos, al cabo de este tiempo la reacción enzimática se detiene con una solución 5 normal de hidróxido de sodio (NaOH).

Los valores de densidad óptica se leen a 405 manómetros en un equipo multiscan.

Los 2 primeros pocillos de la placa se toman como controles negativos y se añaden a ellos PBS en vez de nuestra; los valores de densidad óptica de las muestras se restan del valor promedio de las 2.

En cada placa se monta una curva estándar. Se utiliza un suero de título alto conocido, que se diluye varias veces en diluciones dobles desde 1 en 100 hasta 1 en 1 600, a este suero estándar se le asigna un valor de unidades arbitrarias, de manera tal que los valores de densidad óptica de las muestras son referidos a esta curva y transformados en unidades IgG por mL con la ayuda de una transformación Logit-Log. con la utilización de un punto único de ensayo.

TABULACION Y ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS¹¹

Las cifras correspondientes a los títulos de anticuerpos de las madres y recién nacidos de uno y otro grupos por separado se ordenaron en tablas y se les determinó el coeficiente de correlación lineal entre cada serie de datos. Se consideró altamente significativo cuando fue mayor de 0.8.

RESULTADOS Y DISCUSION

A) DETERMINACION DE LOS TITULOS DE ANTICUERPOS EN MADRES Y NEONATOS

Se pudo apreciar la buena correlación existente entre los títulos de la madre y de los recién nacidos, expresión de que los anticuerpos 1 antimembrana externa del meningococo B fueron capaces de atravesar la barrera placentaria (tabla 1).

La cifra media materna fue de 116.23 Uds. IgG/mL y la de los recién nacidos de 110.92 Uds. IgG/mL lo que evidencia lo anteriormente expresado. El análisis bioestadístico realizado a las cifras de los títulos maternos y neonatales mostró un coeficiente de correlación de 0.8113 considerado como muy bueno; es conocido que el coeficiente de correlación es una medida útil del grado de asociación entre 2 características.

En algunos sueros de nuestro estudio el título de anticuerpo del recién nacido fue mayor que el de la madre (figura 1).

Está establecido que a partir del cuarto mes de la gestación los títulos de globulinas gamma suben continuamente hasta el nacimiento, en cuyo momento la cifra de IgG es casi igual a la de la madre. La cinética de su transporte, así como otros factores distintos, hacen pensar con bastante fundamento que el paso de la IgG a través de la placenta no es un proceso pasivo, sino que envuelve algún tipo de transporte activo.¹² En algunas

experiencias con antitoxinas estafilocócicas y anticuerpos contra *Escherichia coli* se ha llegado a establecer que el título de anticuerpos es superior en el feto comparado con el de la madre.^{13,14}

TABLA 1. Títulos de Ac contra proteína de meningococo B madres y neonatos (Alamar)

Niño No.	Madre	Recién nacido (0-15 días)
1	187	158
2	35	
3	64	51
4	263	205
5	70	73
6	31	63
7		267
8	51	37
9	174	78
10	76	72
11	120	87
12	47	43
13	74	63
14	143	170
15	218	243
16	320	294
17	66	73
18	77	74
19	48	39
20	99	105
21	156	166
22	203	200
23	112	130
24	413	171
25	145	121
26	166	162
27	120	92
28	115	96
Cifra media	116,23	110,92
Coeficiente de correlación	= 0,8113	Sr = 0,1164
Parámetro t	= 11,117	Tc = 6,9409

El análisis de nuestros resultados sugiere la posibilidad que la inmunidad pasiva que la madre la transfiere el recién nacido por vía placentaria, sea lo suficiente para proteger de la enfermedad meningocócica en esta primera etapa de su vida. Al parecer, los pacientes que han sufrido esta enfermedad en el primer mes de la vida la han tenido a causa de que sus progenitores carecían de adecuados niveles de anticuerpos en sangre o que el descenso de los mismos se produjo muy rápidamente.

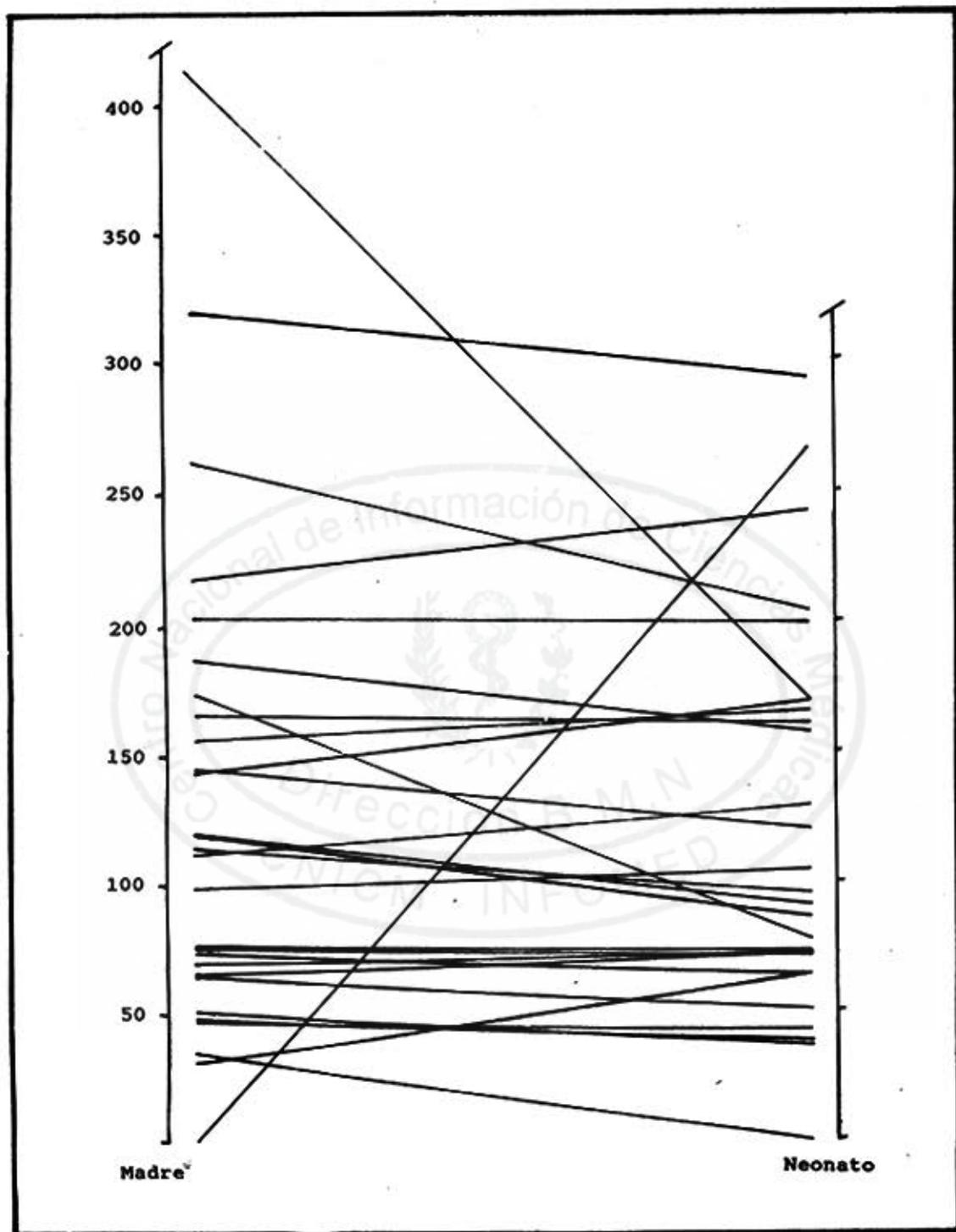


FIGURA 1. Canal de variación de títulos de Ac contra proteína de meningococo B. Madres; neonatos y lactantes según trimestre de vida (Alamar).

B) DETERMINACION DE LOS TITULOS EN LOS LACTANTES
(TABLA 2).

TABLA 2. Titulos de Ac contra proteina de meningococo A lactantes según el trimestre (Alamar)

No.	Trimestre			
	1ro.	2do.	3ro.	4to.
1	47	54	116	116
2		1682	254	122
3	736		63	84
4	66	86	349	112
7	77	113	95	98
8		250	156	
10	32	31	38	32
11	226	54		
15	322	265		
16	60	81	119	125
18	26	41	41	
20	57	96	97	84
21	351	273		
22	1073	91	124	
24	188	331	294	
26	171	271	255	
27	130	718	183	
28	65	354	139	125
Cifra media	226.5	258.2	154.8	99.3

De los 18 años seguidos durante su primer año de vida, 16 elevaron el titulo de anticuerpos durante el periodo de la investigación para el 88.8 %. Del grupo que presentó elevación de anticuerpos, en 14 niños se pudo establecer una correlación entre este aumento y algún suceso clínico o epidemiológico (87.5 %) y en 2 ocasiones no ocurrió esto. Los eventos más relevantes aparecen relacionados en la tabla 3.

La aparición de titulos significativos de anticuerpos contra el meningococo estuvo asociada con mucha frecuencia a la fiebre, así como a síntomas y signos respiratorios o digestivos. También se encontró asociación con cambios en la vida normal del lactante que implicaron contactos con nuevas personas (ingreso a instituciones infantiles u hospitales, viajes interprovinciales) todo lo cual aumentó la exposición a nuevos gérmenes.

El elevado porcentaje de niños en los cuales aparecen niveles importantes de anticuerpos contra el meningococo durante el primer año de vida refleja que en ese periodo la mayoría de ellos (en nuestro medio) ha tenido contacto con dicho germen o con algún otro capaz de producirle inmunidad cruzada. En ninguna de las muestras tomadas para estudio microbiológico (exudados faríngeos y coprocultivos) pudo cultivarse la *Neisseria meningitidis*.

TABLA 3. Principales eventos en la elevación del título de Ac contra proteína de meningococo B (Alamar)

A) Clínicos	No de pacientes	%
- Fiebre	11	78,0
- Tos	9	64,2
- Diarreas	5	36,0
- Faringitis	4	28,0
- Vómitos	3	21,0
- Eritema	2	14,2
- Rinitis	2	14,2
- Neumonía	2	14,2
- Conjuntivitis	2	14,2
B) Epidemiológicos		
- Ingreso en círculo infantil	3	21,3
- Contacto con adulto febril	2	14,2
- Ingreso en hospital	1	7,1
- Viaje interprovincial	1	7,1

La cifra de lactantes que aumentaron el título de anticuerpos es alto porque en los últimos años se ha mantenido elevado el número de personas que sufren enfermedad meningocócica en nuestro país o son portadores asintomáticos de la *Neisseria meningitidis*.

Por esa razón los niños desde muy temprana edad elevan el título de anticuerpos contra este microorganismo mediante la exposición a sus antígenos. Este problema adquiere una nueva connotación pues en estos momentos se está administrando en varias provincias cubanas la vacuna antimeningocócica B, lo cual obliga a repetir estos estudios bajo las nuevas condiciones.

Los síntomas a los cuales se asoció el aumento del título son expresión de procesos infecciosos; en cuanto a la asociación con el ingreso al círculo infantil o viajes, aumenta el título quizás debido a la exposición a numerosos agentes biológicos que resultan extraños para el pequeño.

La mayoría de las personas que tienen el meningococo en la nasofaringe son asintomáticos, pero la nasofaringitis con signos y síntomas bien evidentes puede preceder a la meningoencefalitis meningocócica o a la meningococemia.¹⁵ La sensibilización inmune con cepas no virulentas, igual que en el adulto, parece ser el modo en que se adquiere la resistencia también en los niños. La protección contra la enfermedad meningocócica quede resultar también de la exposición a antígenos de reacción cruzada de bacterias sin ninguna relación con el meningococo.¹⁶

El polisacárido capsular de la E. coli K1 y K92 tienen reacción cruzada inmunológica con los antígenos polisacáridos de los meningococos de los grupos B y C respectivamente. Se plantea que pueden tener este mismo efecto otros gérmenes como el Bacillus jubilis, neumococos y Bacteroides fragilis.^{4,16} Los antígenos proteicos contenidos en la membrana externa del meningococo son también compartidos con otros microorganismos capaces de infectar el tracto respiratorio o digestivo del ser humano.

C) TRIMESTRE DEL PRIMER AÑO DE VIDA EN QUE SE PRODUJO LA ELEVACION DEL TITULO DE ANTICUERPO

En cuanto al trimestre del primer año de vida en el cual se produjo la elevación de anticuerpos, se encontró que en el primer trimestre elevaron el título 6 niños para el 37.5 %, en el segundo trimestre fueron 7 para el 43.7 %, en el tercer trimestre fueron 3 los niños para el 18.8 % y en el cuarto trimestre no hubo elevación del título (tabla 4). En algunos países se ha informado que el segundo trimestre de vida ha sido el período de mayor incidencia de la enfermedad meningocócica.¹⁷

TABLA 4. Trimestre del primer año de vida en que se produjo la elevación de Ac

Trimestre de la vida	No. de pacientes	%
Primero	6	37.5
Segundo	7	43.7
Tercero	3	18.8
Cuarto	0	0
Total	16	100

El canal de variación seguido por los títulos contra la proteína del meningococo B, en la sangre obtenida del grupo de madres estudiadas y sus hijos al concluir cada trimestre de primer año de vida puede apreciarse en la figura 2. En él se aprecia una cierta tendencia de ascenso hasta el segundo trimestre de la vida, a partir del cual ya no se pueden apreciar variaciones importantes, y llega a estabilizarse hasta el cuarto trimestre para alcanzar un valor en meseta.

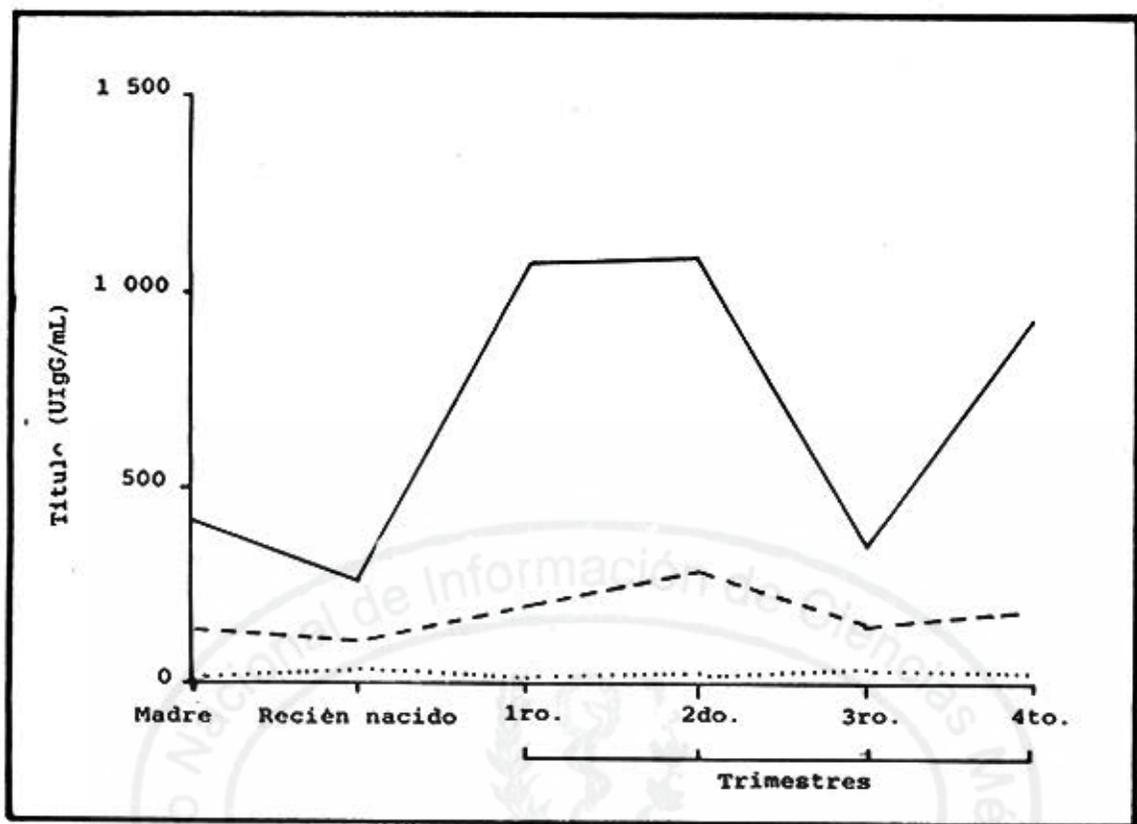


FIGURA 2. Titulos de Ac contra proteína de meningococo B. Madres y neonatos (Alamar).

SUMMARY

Twenty-nine infants from Alamar (Habana del Este municipality) -born from July to September, 1985- are studied. The levels of circulating antibodies to meningococcus B at different ages during the first year of life are determined. There was an excellent correlation between maternal titers (generally high) and those of neonates. These titers decreased initially and rose again at different ages as an expression of the child's active immunization, naturally acquired by environmental antigenic stimulation. Most infants (88.8 %) showed increased titers some time in the second trimester of the first year of life, and most of them had it in the second trimester of life. During each period previous to titer rise, it was frequently found that children had had fever and respiratory or digestive symptoms.

RESUME

On a étudié 29 nourrissons du quartier Alamar (municipalité La Havane de l'Est), nés entre juillet et septembre 1985, chez lesquels on a déterminé les niveaux d'anticorps circulants contre le méningocoque B, à différents moments au cours de la première année de vie, au moyen de la technique

ELISA. Il a été constaté une corrélation excellente entre les titres des mères (en général élevés) et les titres de leurs fils. Ces titres ont descendu au début et il se sont élevés de nouveau à différents âges, traduisant l'immunité active de l'enfant, naturellement acquise par stimulation antigénique du milieu. La plupart des nourrissons (88,8 %) a montré un accroissement des titres pendant un moment donné de la première année de vie, dans la plupart des cas étant observé au cours du deuxième trimestre de la première année de vie. Durant chaque période précédant l'élévation de ces titres, il a été souvent noté que les enfants avaient eu de la fièvre et des symptômes respiratoires ou digestifs.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. HERBERT, W. J.; P. G. WILKINSON: Diccionario de Inmunología. Barcelona. Ed. Jims, 1974. pp. 115-117.
2. GOLDSCHNEIDER, I. ET AL.: Human immunity to the meningococcus. II. Development of natural immunity. *J Exp Med* 120: 1327-1348, 1969.
3. GRIFFISS, J. M. ET AL.: Immune response of infants and children to disseminated infections with *Neisseria meningitidis*. *J Inf Dis* 150 (1): 71-79, 1984.
4. PAUSTE, H. ET AL.: Inmunidad al meningococo. Estudio de un grupo de convalecientes. *Rev Cubana Pediatr* 59 (4): 593-602, 1987.
5. ALEXANDER, J. W.; R. A. GOOD: Principios de Inmunología Clínica. Barcelona, Ed. Reverté, S. A., 1980.
6. CLAMAN, H. N.: The biology of the immune response. *JAMA* 258 (20): 2834-2840, 1987.
7. ABBOTT, J. D. ET AL.: The epidemiology of meningococcal infections in England and Wales. *J Infect* 11: 241-257, 1985.
8. POOLMAN, J. T. ET AL.: Serotipos meningocócicos y enfermedad por el serogrupo B en el Noroeste de Europa. *Lancet* (ed. esp.) 10 (1): 53-64, 1987.
9. ESCANDON RODRIGUEZ, A. ET AL.: Enfermedad meningocócica: estudio clínico-epidemiológico. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 24 (1): 70-77, 1986.
10. MINSAP, DIRECCION NACIONAL DE EPIDEMIOLOGIA: Cuadro Epidemiológico Nacional 1987. La Habana, 1988.
11. CARBALLO, M.; L. PRADO: Bioestadística. La Habana. Ed. Pueblo y Educación, 1988.
12. MATAMOROS FLORI, N.: Inmunidad y gestación. *Med Clin (Barcelona)* 91: 658-659, 1988.
13. ROITT, I. ET AL.: Inmunología. Barcelona. Ed. Medsi, 1988.
14. STITES, D. ET AL.: Inmunología Básica y Clínica. 5a. ed. La Habana, Edición Revolucionaria, 1985, pp. 613-615.
15. SALIT, I. E. ET AL.: Experimental meningococcal infection in neonatal animals: models for mucosal invasion. *Can J Microb* 30: 1022-1029, 1984.
16. STEPHENS, D. S. ET AL.: Analysis of damage to human ciliated nasopharyngeal epithelium by *Neisseria meningitidis*. *Infect Immunol* 51 (2): 579-585, 1986.
17. BERGER, U. ET AL.: Epidemiology of meningococcal infections in the Federal Republic of Germany. 1966-1984. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 268 (1): 83-102, 1988.

Recibido: 23 de agosto de 1989. Aprobado: 4 de octubre de 1989.

Dr. Orlando González. Hospital Pediátrico Docente "William Soler", San Francisco y Perla 10112. Ciudad de La Habana 10800, Cuba.