

Título: Respuesta inmune intratecal y características clínicas de la meningoencefalitis por *Neisseria meningitidis* en pacientes inmunizados con la vacuna cubana VA-MENGOC-BC

Autores: Elena Noris-García¹ anoris@infomed.sld.cu, Raisa BuCoifu-Fanego¹, Alberto J Dorta-Contreras,¹ Marlen González-Hernández,¹ Diana Padrón-Gutiérrez,² Bárbara Padilla-Docal¹, María Esther Magraner-Tarrau² Hermes Fundora-Hernández.¹

1. Laboratorio Central de Líquido Cefalorraquídeo (LABCEL), Facultad de Ciencias Médicas “Dr. Miguel Enríquez”, Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. Ramón Pintó 206, Luyanó. Ciudad de La Habana, Cuba.

2. Hospital Pediátrico de San Miguel del Patrón. Calzada de San Miguel del Padrón. Ciudad de La Habana, Cuba.

Introducción

La enfermedad meningocócica (EM) constituye una de las enfermedades más temidas en la infancia, tanto por el personal de salud como por la población en general, debido principalmente a su natural potencial epidémico, su severidad y altas tasas de mortalidad (1).

En el mundo ocurre anualmente un aproximado de 500,000 casos de la enfermedad meningocócica, que ocasionan alrededor de 60,000 pacientes con secuelas permanentes y más de 50,000 muertes. Por lo que la posibilidad de prevenir esta situación con vacunas toma gran importancia (2).

Motivados por el incremento de la incidencia del serogrupo C algunos países han incorporado a su esquema de vacunación una vacuna conjugada contra este serogrupo, que lleva a una importante reducción de la incidencia en el periodo inmediatamente después de la vacunación (3).

En Cuba entre los años 1982-1988 se desarrolló una vacuna antimeningocócica contra los serogrupos de *N. meningitidis* B y C (VA-MENGOC-BC®). En 1989 se registró y comenzó su aplicación en forma de campaña; en 1991 se incorporó al Programa Nacional de Inmunización, a partir de ese momento se aplica a toda la población infantil al cumplir los 3 meses de edad (primera dosis) y a los 5 meses (segunda dosis) (4,5).

Se han realizado varios estudios para evaluar la respuesta en personas vacunadas con VA-MENGOC-BC® a través de las técnicas convencionales establecidas para dichos fines (6, 7, 8). Sin embargo no existen investigaciones que reflejen la respuesta inmune intratecal en pacientes que a pesar de estar vacunados enfermaron de meningoencefalitis por *N. meningitidis*.

El estudio de la inmunidad intratecal resulta de vital interés para comprender las bases neurofisiológicas de las enfermedades infecciosas en el Sistema Nervioso Central. En este trabajo se describe la respuesta inmune intratecal en 12 pacientes vacunados que presentaron enfermedad meningocócica.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio descriptivo, donde fueron incluidos 12 niños con el diagnóstico de meningoencefalitis (ME) meningocócica, 10 de ellos entre los años 1996-1997 y dos en el periodo de 2004-2007, que ingresaron en el Hospital Pediátrico de San Miguel del Padrón, donde se atiende a la población de cuatro municipios de la Ciudad de La Habana.

Estos pacientes habían sido vacunados con la vacuna antimeningocócica cubana (VA-MENGOC-BC®), según el esquema vigente. Se les tomó una muestra diagnóstica de suero y líquido cefalorraquídeo (LCR) en la fase aguda de la enfermedad y se estudiaron las características clínicas.

Debemos señalar que por no ser posible encontrar un grupo de niños no vacunados, debido a que actualmente la campaña de vacunación cubre a toda la población infantil; utilizamos en este estudio los resultados previamente reportados del estudio de la inmunidad intratecal a *N. meningitidis* en ocho niños que enfermaron antes de la instauración de la campaña de vacunación (9). Escogimos este grupo de pacientes para el análisis comparativo por presentar algunas características comunes: procedían también del Hospital Pediátrico de San Miguel del Padrón, presentaban el mismo rango de edades y el estudio neuroinmunológico se había realizado por el mismo personal de laboratorio que realizó el estudio actual, con la misma metodología y mediante el empleo del reibergrama para el análisis de los resultados.

Se cuantificaron IgG, IgA, IgM y albúmina por inmunodifusión radial simple en placas NOR y LC Partigen (Dade-Behring, Marburg) en suero y LCR, respectivamente.

Los resultados fueron evaluados a través de los reibergramas (10). Este constituye uno de los métodos más robustos para el estudio de la síntesis intratecal de inmunoglobulinas y para el conocimiento de la funcionalidad de la barrera sangre-LCR.

El estudio se realizó previa obtención del consentimiento informado de los padres de estos pacientes. El mismo fue revisado y aprobado por el Comité Científico del Hospital Pediátrico "San Miguel de Padrón". Para determinar el grado de dependencia entre la funcionalidad de la barrera sangre-LCR y la gravedad de la enfermedad interpretado a partir del tiempo de estadía hospitalaria de los pacientes, se utilizaron tablas de contingencia 2 x 2 a las que se realizó un test exacto de Fisher. Se aplica test t de Student para la comparación de los valores medios de síntesis intratecal de inmunoglobulinas entre los vacunados que enfermaron y un registro histórico de ocho pacientes no vacunados. Para todos los casos el nivel de significación fue de $p < 0,05$.

Resultados

Nuestra muestra de pacientes vacunados que enfermaron quedó conformada por una distribución equitativa entre ambos sexos. El tiempo promedio transcurrido entre la vacunación y la aparición de los síntomas fue de 2 años y 3

meses (Tabla 1).

Tabla 1. Años transcurridos entre la vacunación y la aparición de los síntomas de la EM en niños vacunados

Años entre la vacunación y la aparición de los síntomas	No de niños que enfermaron
Menos de 1 año	2
De 1 a 2 años	3
De 3 a 5 años	7

Figura 1. Reibergramas. $Q(Ig)$: $Ig\ LCR/Ig\ suero$ es una función de $Q(alb)$ (albúmina LCR/albúmina suero), que representa la distribución hiperbólica entre ambas. La línea más gruesa representa el límite donde no hay síntesis local de Ig en el LCR. Por encima de la curva hay síntesis local de Ig en el LCR de forma creciente producida por la contribución de la fracción de Ig sintetizada localmente. Una medida de ésta son las curvas percentiles que expresan en porcentaje la fracción de Ig sintetizada con respecto a la Ig total en el LCR.

Tabla 2. Complicaciones más frecuentes en pacientes con meningoencefalitis a meningococo en niños vacunados.

Complicaciones	Numero de Ptes	Por ciento
Edema Cerebral	7	53.84
Edema Cerebral Convulsión	+3	23.07
Meningococemia	1	7.69
Ninguna	2	15.38

No encontramos relación entre la estadía hospitalaria como criterio indirecto de la gravedad de los pacientes y la funcionalidad de la barrera sangre-LCR, como se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Relación entre la funcionalidad de la barrera sangre–LCR y la estadía hospitalaria en niños vacunados.

	Estadía ≥ 10	Estadía >10
Disfunción de barrera	1	6
No disfunción de barrera	2	4

El análisis de la Tabla 4 refleja los valores medios de la síntesis local de inmunoglobulinas en los pacientes vacunados.

Tabla 4. Valores medios de la síntesis local de inmunoglobulinas en pacientes vacunados con ME meningocócica.

Pacientes	Síntesis Local de IgG X(DE)	Síntesis Local de IgA X(DE)	Síntesis Local de IgM X(DE)
Grupo Vacunado	2.01 (3.6)	5.43 (4.3)	8.26 (8.3)

Si comparamos la síntesis local media entre estos 12 pacientes y lo reportado con anterioridad en los 8 no vacunados que enfermaron (9), se encontró que existían diferencias significativas, los cuales tuvieron valores medios de 720,02; 123,15; 201,89 mg/L para la IgG, IgA e IgM con una probabilidad de 0,02; 0,033 y 0,04, respectivamente.

Nótese que la síntesis intratecal de todas las clases de inmunoglobulinas fue significativamente menor en los pacientes vacunados en relación con la población no vacunada.

La Tabla 5 muestra los patrones de síntesis intratecal encontrado en la muestra de niños vacunados. La respuesta resultó ser muy heterogénea a diferencia de lo encontrado en los controles históricos donde todos los pacientes mostraron un patrón con las tres clases mayores de inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM (9).

En la Figura 1 podemos apreciar los reibergramas para la síntesis intratecal de inmunoglobulinas mayores y el estado de la barrera sangre–LCR en los pacientes vacunados.

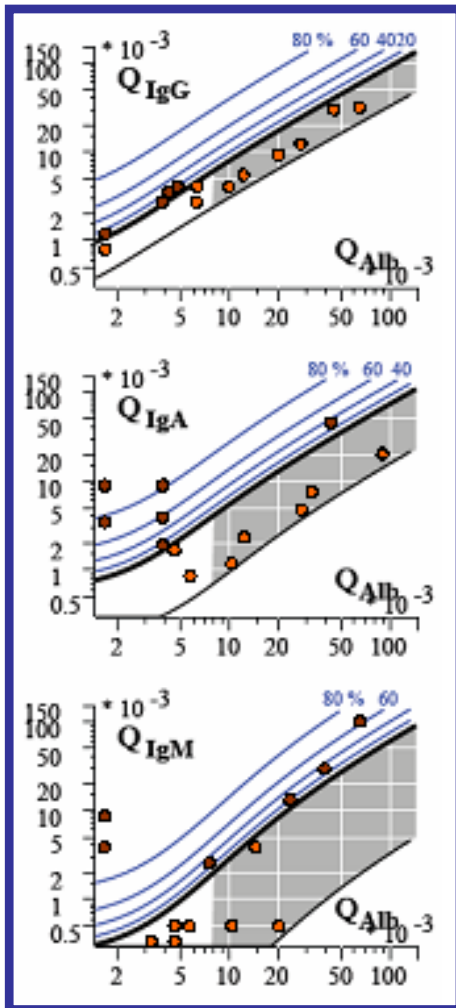


Tabla 5. Patrones de síntesis de inmunoglobulinas frente a la *N meningitidis* en pacientes vacunados.

Pacientes	No de casos	Patrones de Síntesis
Grupo vacunado	2	IgG+IgA+IgM
	2	IgG+IgA
	2	IgM+IgA
	3	IgM
	3	No síntesis

Discusión

Después de transcurrir más de 20 años de aplicación VAMENGOC- BC® en Cuba y 13 de su incorporación al Programa Nacional de Inmunización, la EM no constituye actualmente un problema de salud para Cuba, y sólo se notifican casos aislados (11).

Los años en que se produjeron los casos de meningoencefalitis por *N. meningitidis* reportados en este trabajo corresponden a dos períodos diferentes: el primero comprendido entre 1996-1997 y el segundo entre los años 2004-2007 y todos coinciden con las cifras reportadas por el Hospital Pediátrico San Miguel del Padrón que atiende a la población infantil de cuatro de los 15 municipios con que cuenta la provincia de Ciudad de La Habana. Estas cifras representan un subconjunto con respecto al total de casos reportados en el país. Según el Anuario Estadístico de Salud en esos años se reportaron 139 y 106 pacientes con esta enfermedad a nivel nacional, para cada periodo estudiado respectivamente (12).

En los pacientes vacunados incluidos en este estudio se comprobó que el esquema de inmunización incluyó las dos dosis de vacunas antimeningocócica VA-MENGOC-BC® en el tiempo establecido.

En nuestra muestra los síntomas comenzaron en un tiempo superior al año transcurrido desde la aplicación de la última dosis; esto se corresponde con otros estudios realizados (13- 15). En un estudio descriptivo acerca de la morbimortalidad por EM en pacientes vacunados, se observó que el mayor número de niños enfermos correspondían a aquellos que superaban el año de recibir la última dosis (16).

Las complicaciones tales como shock, coagulopatía de consumo, secuelas neurológicas, muy comunes en los casos reportados antes de la introducción de la vacuna, no se presentaron en los pacientes vacunados.

El estudio de la respuesta inmune resulta de vital importancia tanto para comprender la fisiopatología de las enfermedades infecciosas como para tratar de corroborar la eficacia de una vacuna.

Poder discriminar entre las inmunoglobulinas encontradas en el LCR, cuáles se deben a una producción intratecal en respuesta a un estímulo local y cuáles provienen del suero por simple disfunción, ha sido un problema que ha preocupado a los neuroinmunólogos por muchos años. De ahí que existan diferentes formulaciones matemáticas que estudian la síntesis intratecal de las inmunoglobulinas. Nuestro equipo de trabajo empleó la propuesta de Reiber mediante el reibergrama, el cual posee ventajas indiscutibles con respecto a otras técnicas reportadas con estos fines.

El reibergrama puede trabajar en cualquier condición de la barrera sangre de líquido cefalorraquídeo, sus resultados no varían con el volumen de LCR extraído. Para el laboratorio ofrece la ventaja de poder comprobar parte del aseguramiento de la calidad del análisis y puede sugerir al médico de cabecera la posibilidad de un análisis adicional para llegar a un diagnóstico definitivo (17).

Según estos postulados el aumento de las concentraciones proteicas en el LCR encontrados en los procesos inflamatorios del sistema nervioso central se deben a una disfuncionalidad de la barrera sangre-LCR condicionada por una disminución de la velocidad de flujo sin que ocurran cambios en la permeabilidad o selectividad de esta barrera (18).

Debido a que en las meningoencefalitis esta disminución de la velocidad de flujo está muy relacionada con la inflamación de las meninges, con un incremento en la viscosidad del LCR y de adhesiones meníngeas, se propuso correlacionar la disfunción de la barrera sangre-LCR con la gravedad de los pacientes, tomando como indicador la duración de su estadía hospitalaria. Sin embargo, no encontramos relación estadísticamente significativa entre estas dos variables, lo cual puede deberse a múltiples factores. No obstante, hay que tener en cuenta que en la duración de la estadía hospitalaria, además de la gravedad del paciente, pueden influir otros de carácter administrativo o subjetivos que pudieran alargar o acortar la estadía hospitalaria.

La síntesis intratecal de las tres inmunoglobulinas estudiadas fue significativamente inferior en los pacientes vacunados con relación al grupo de pacientes del registro histórico.

Esta comparación tiene como limitante que no tenemos todos los detalles con relación a las características individuales de cada paciente por haberse realizado en momentos diferentes alejado en el tiempo.

En un estudio previo realizado en la población cubana vacunada se encuentra un número elevado de adolescentes con actividad bactericida en el suero contra el preparado vacunal (18). Estos anticuerpos se consideran un elemento de protección, si tenemos en cuenta que los anticuerpos bactericidas estimulados en la respuesta secundaria forman parte de los mecanismos contra la septicemia y las meningoencefalitis causadas por *N. meningitidis*.

Si conocemos que *N. meningitidis* se establece primero en el tracto respiratorio, después invade el torrente sanguíneo y de ahí es que pasa al LCR (19, 20) podemos inferir que estas cifras bajas de respuesta intratecal en pacientes con una evolución más satisfactoria, puede ser expresión de una respuesta inmune en periferia que limitó el número de bacterias que alcanzaron el LCR.

Por otra parte, el estudio de los patrones de síntesis intratecal incrementa el valor diagnóstico de los reibergramas. Los patrones de síntesis son en ocasiones típicos para las enfermedades infecciosas. Incluso se ha observado que este puede cambiar en ME virales en etapas epidémicas e interepidémicas, posiblemente condicionados por variaciones del genoma viral (21, 22). Observamos un patrón único de síntesis de las tres inmunoglobulinas mayores en los no vacunados contra patrones muy heterogéneos en los que sí recibieron la vacuna.

Sin embargo, en la caracterización fenotípica de las cepas invasivas de *N. meningitidis* aisladas en Cuba se detectó similitud entre los serosubtipos observados en el periodo epidémico y postepidémico. En ambos grupos el fenotipo observado es B: 4:P1.19, 15 (22).

La respuesta inmune depende de la interacción entre el huésped y el agente infeccioso, por lo tanto, este cambio del patrón de respuesta debe estar más

influenciado por factores dependientes del huésped que han modificado la respuesta inmune en estos pacientes y no a alteraciones estructurales de la bacteria (23-25). Este estudio nos indica que en la muestra estudiada la vacuna modifica la respuesta neuroinmunológica y el cuadro clínico de la enfermedad. El impacto y efectividad de VA-MENGOC-BC®, en el control de las ME y la disminución de los brotes epidémicos ha sido demostrada tanto en Cuba como en otros países (25). Otros autores reportan una alta efectividad de la vacuna conjugada contra el meningococo C, a pesar de ello consideran que quizás sea necesario la incorporación de refuerzos (26, 27). Nos preguntamos si fuera o no necesario la introducción de una dosis de refuerzo de VA-MENGOCBC® para garantizar una protección de mayor duración. Sin embargo, la incidencia de la enfermedad continúa disminuyendo, lo que no avala esta estrategia. Sugerimos, por lo tanto, la realización de ulteriores investigaciones.

Referencias bibliográficas

1. Harrison-Lee H. Prospects for Vaccine Prevention of Meningococcal Infection. *Clin Microbiol Rev* 2006;19(1):142-164.
2. Pimentel-Barros A, Palazzi-Sáfadi MA. Meningococcal conjugate vaccines: efficacy and new combinations. *J Pediatr (Rio J)* 2006;82(3 Suppl):S35-44.
3. Miller E, Salisbury D, Ramsay M. Planning. Registration and implementation of an immunization campaign against meningococcal serogroup C disease in UK: a success story. *Vaccine* 2001; 20 Suppl 1:S58-67.
4. González CS, Pérez SM, Barroetabeña Y. Fallecidos por meningoencefalitis bacteriana en menores de 15 años en la provincia Ciego de Ávila. *Mediciego* 2007; 13. Disponible en <http://mediciego.htm>
5. Pérez A, Dickinson F. Resultados del Programa Nacional de inmunización antimeningocócica BC en menores de un año en Cuba. *Rev Cub Pediatría* 1998; 70:133-140.
6. Camaraza MA, Sotolongo PF, Arnet A, Izquierdo L, Campa C, Leiva T, et al. Respuesta de anticuerpos bactericidas a la vacunación con VA-MENGOC-BC® en niños afectados por el accidente nuclear de Chernobil. *Rev Chilena Pediatría* 1995;66:31.
7. Echeverri ML, Malberty JA, Galeano ML, Sotolongo PF, Galguera MA, Montoya BC, et al. Respuesta inmune humoral al polisacárido capsular de la *Neisseria meningitidis* serogrupo C en un ensayo de vacunación antimeningocócica BC en Antioquia Colombia. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995; 118:295-01.
8. Sotolongo F. *Neisseria meningitidis*. Aspectos Teórico-Práctico sobre el diagnóstico, clasificación y valoración de la respuesta inmune. Serie Monográfica. Ciudad de la Habana: Ediciones Finlay;1995.
9. Dorta-Contreras AJ, Vázquez-Martínez M, Ferra-Valdés M, BuCoifu-Fanego R, García-Imia L. Inmunidad intratecal anti- *Neisseria meningitidis*. *Rev Española de Pediatría*, 1995; 51:245- 252.

10. Dorta-Contreras AJ, Noris-García, BuCoifiú-Fanego R, Padilla- Docal B. Bases moleculares de la Neuroinmunología (II). El reibergrama y su uso en Neuroinmunología. Rev Cubana Pediatr 2005; 77. Disponible en <http://bvs.sld.cu/revista/v77-3-05/pedo3306>.
11. Domínguez-Perera MA. La enfermedad Meningocócica en Cuba 20 años después. Rev Cub Med Int Emerg 2003; 2:98-99.
12. Estadística de Salud de Cuba. Anuario Estadístico de Salud 2007. Disponible en http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/dne/anuario_estadistico-desalud-2007 [consultado el 31 de julio de 2008].
13. Pérez A, Molina I, García M. Comportamiento de la EM en el territorio de Ciudad de La Habana antes y después de la vacunación. Rev Cubana Med Trop 2002;54(2):106-12.
14. Zamora R. Factores asociados a la ocurrencia de la enfermedad meningocócica en población inmunizada en Ciudad de La Habana. [Tesis para optar por el título de Máster en enfermedades infecciosas]. Ciudad de La Habana, 2005.
15. Milonovich LM. Meningococemia:epidemiology, pathophysiology, and management. J Pediatr Health Care 2007;21(2):75-80.
16. Dorta-Contreras A. Reibergramas: elemento esencial en el análisis inmunológico del líquido cefalorraquídeo. Rev Neurol 1999; 28: 996-8.
17. Noris-García E. Difusión de proteínas a través de la barrera sangre-líquido Cefalorraquídeo. En Barrera sangre-líquido cefalorraquídeo. Colectivo de autores. Editorial Academia. Ciudad de La Habana; 2006:21-35
18. Camaraza MA, Martínez I, Ochoa R, Amet A, Sotolongo F, Hernández D, et al. Respuesta de anticuerpo inducida por la vacuna antimeningocócica cubana VA-MENGOC-BC® frente a la cepa *Neisseria meningitidis* B:4:P1,19,15 en adolescentes después de 12 años de inmunizados. VacciMonitor 2006;15(3):1-4.
19. Davenport V, Groves E, Hobbs CG, Williams NA, Heyderman RS. Regulation of Th-1 T cell-dominated immunity to *Neisseria meningitidis* within the human mucosa. Cell Microbiol 2007;9(4):1050-61. Epub 2006 Dec 12.
20. Dorta-Contreras AJ, Noris-García, BuCoifiú-Fanego, Padilla- Docal B. Bases moleculares de la Neuroinmunología (I). Barrera sangre-líquido cefalorraquídeo y síntesis intratecal de inmunoglobulinas. Rev Cubana Pediatr 2005; 77. Disponible en <http://bvs.sld.cu/revista/v77-3-05/pedo3305.htm>
21. Dorta-Contreras AJ. Reibergrama como herramienta epidemiológica: nuevo enfoque. Rev Neurol 2001; 33:36.
22. Martínez I, Sierra G, Núñez N, Izquierdo L, Climen Y, Mirabal M. Caracterización fenotípica de cepas invasivas de *Neisseria meningitidis* aisladas en Cuba durante 20 años. Vaccimonitor 2006;15(1):9-15.
23. Kamali S, Norouzian D, Tabarai B, Read RC, Rezaei N, Aghamohammadi A, et al. Serum bactericidal antibody response to serogroup C polysaccharide meningococcal vaccination in children with primary antibody deficiencies. Vaccine 2007;25(29):5308-14.
24. Nadel S, Simon J. Diagnosis and management of meningococcal disease: the need for centralized care. FEMS Microbiology Reviews 2007;31: 71-83.

25. Pirez GM, Picon MT, Galazka CT, Quián RJ, Gutiérrez RS, Ferrari CA, et al. Enfermedad invasiva meningocócica en Uruguay. Informe epidemiológico y recomendaciones, mayo 2002. *Rev Med Uruguay* 2002;18:83-2.
26. Trotter CI, Andrews NJ, Kaezmarsk EB, Millae E, Ramsay ME. Effectiveness meningococcal serogrup C conjugate vaccine of years after introduction. *Lancet* 2005;364:309-10.
27. Mc Vernon J, MacLennan J, Pollard J, Orter P, Wakeful ML, Danzin L , et al. Immunologic memory with no detectable bactericida antibody response to a first dose of meningococcal serogrup C conjugate vaccine at four years. *Pediatric Infect Dis J* 003;22:659-61.