

Artigo de revisão

Desafios para o desenvolvimento da vacina antimeningocócica B* *Challenges in the development of meningococcal B vaccine*

Raphael Gonçalves Nicésio¹; Denise Fusco Marques¹; Elisabete Cardiga Alves¹; Ivete Aparecida Zago Castanheira de Almeida¹

¹Instituto Adolfo Lutz – Centro de Laboratório Regional de São José do Rio Preto – X, Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo – Brasil.

RESUMO

A doença meningocócica (DM) é transmitida por gotículas respiratórias e é causada pela bactéria *Neisseria meningitidis* ou meningococo. A estrutura externa da bactéria é formada por uma membrana polissacarídica, que somada às proteínas antigênicas define os sorogrupos meningocócicos, importantes fatores na imunogenicidade. Dentre os treze sorogrupos existentes, cinco (A, B, C, Y e W) são os causadores da DM. Os mecanismos de defesa do organismo hospedeiro contra a doença são as ativações da cascata da coagulação e do sistema complemento. A troca de porções antigênicas da superfície bacteriana dificulta a erradicação do micro-organismo causador da DM, que possui maior incidência em crianças menores de cinco anos, principalmente em menores de um ano. Em razão disso, a vacinação grupo-específica é a forma mais indicada para prevenir epidemias meningocócicas, com diferentes níveis de incidência em cada continente. Ainda não há uma vacina eficaz para crianças contra o meningococo B devido à sua similaridade antigênica com células de tecido do hospedeiro. Como este sorogrupo bacteriano é pouco imunogênico, induz a tolerância imunológica no hospedeiro. A fim de desenvolver métodos efetivos de proteção contra o meningococo B, grupos de pesquisadores realizaram várias investigações, como a utilização de vacinas polissacarídicas puras, conjugadas e de proteínas bacterianas com características moleculares semelhantes, porém sem bons resultados. Em contraposição, a descoberta promissora da vacinologia reversa no ano de 2000 teve importante impacto nas pesquisas quando, pelo sequenciamento genômico, foi possível detectar antígenos conservados nas diferentes cepas meningocócicas, auxiliando na produção de vacinas mais eficazes contra os sorogrupos.

PALAVRAS-CHAVE: Doença meningocócica. *Neisseria meningitidis*. Vacina. Sorogrupo B.

*Artigo de revisão extraído do trabalho de conclusão do Programa de Aprimoramento Profissional de Microbiologia em Saúde Pública do Instituto Adolfo Lutz - CLR de São José do Rio Preto – X, intitulado **Desafios para o desenvolvimento da vacina antimeningocócica B**, apresentado como requisito para obtenção do Certificado de Conclusão do Programa.

ABSTRACT

Meningococcal disease (MD) is transmitted by respiratory droplets and caused by *Neisseria meningitidis* or meningococcus. The external structure of the bacterial membrane is formed by a polysaccharide, which added to the antigenic proteins define meningococcal serogroups, important factors in immunogenicity. In the world, among the existing thirteen serogroups, five (A, B, C, Y and W) are the cause of MD. The defense mechanisms of the host organism against disease are the activation of the coagulation and complement cascades. The portion's exchange of the antigenic bacterial surface hampers the elimination of the micro-organism that causes MD. Although affecting all age groups it has higher incidence among children under five years old, mainly those under one year old. For this reason, group-specific vaccination is the most indicated method to prevent meningococcal epidemics that may have different levels of incidence in each continent. There is still no effective vaccine for infants against serogroup B due to the antigenic similarity of the meningococcus B cells with host tissue. This bacterial serogroup is poorly immunogenic, inducing immune tolerance among hosts. In order to develop effective methods of protection against meningococcus B, groups of researchers have conducted several investigations using pure polysaccharide vaccines, conjugate and bacterial proteins with similar molecular characteristics, without good results. In contrast, the promising discovery of reverse vaccinology in 2000 had a positive impact. Through bacterial genome sequencing, it was possible to detect antigens conserved in different meningococcal strains, which can help producing more effective vaccines against these serogroups.

KEYWORDS: Meningococcal disease. *Neisseria meningitidis*. Vaccine. Serogroup B.

INTRODUÇÃO

A bactéria *Neisseria meningitidis* ou meningococo é o micro-organismo responsável por causar a doença meningocócica (DM) no ser humano, que é o seu único portador natural. É classificada como diplococo Gram-negativo encapsulado e fica aderida à superfície das células da mucosa nasofaríngea de indivíduos saudáveis. Sua estrutura é formada por membranas

interna e externa, separadas por uma parede celular. Na superfície externa, há proteínas que permitem a interação com células hospedeiras e outras funções. A membrana externa do meningococo é revestida por uma cápsula polissacarídica que atua na patogenicidade bacteriana e auxilia na resistência da bactéria à ação de fagócitos e lise mediada pelas proteínas

do sistema complemento. Juntas, a membrana e a cápsula formam a principal superfície antigênica do micro-organismo.¹

Embora a DM acometa todas as faixas etárias, a maior incidência é em crianças menores de cinco anos, principalmente em menores de um ano. Neonatos raramente adoecem em virtude dos anticorpos maternos ainda estarem presentes nos primeiros meses de vida. A partir dos três meses de idade, a vulnerabilidade aumenta com o declínio da imunidade. O grupo etário de adultos com mais de sessenta anos também é mais suscetível à doença devido à deficiência do sistema imunológico.²

A classificação primária de sorogrupos das cepas do meningococo é realizada por meio da expressão antigênica da cápsula polissacarídica. No mundo, dentre os treze sorogrupos já identificados da espécie, cinco (A, B, C, Y e W) constituem os principais causadores de meningite meningocócica. Considerando os diferentes sorogrupos, a DM é uma importante causa de morbidade e mortalidade no mundo. Na Europa e Américas há predominância dos sorogrupos B e C, enquanto na África os sorogrupos A e C são os mais comuns. O sorogrupo W é responsável por surtos mundialmente, e o Y está geralmente associado com a doença nos Estados Unidos e Canadá.³

Semelhanças genéticas nos *loci* envolvidos na formação de estruturas das cápsulas dos sorogrupos B, C, W e Y, aparentemente favorecem a troca de porções antigênicas da superfície bacteriana. Como consequência, qualquer imunidade anticapsular adquirida, naturalmente ou por meio de vacinas, se torna ineficaz no controle da disseminação do patógeno.³

A principal e mais indicada forma de prevenção das epidemias de DM são as vacinas grupo-específicas. As vacinas polissacarídicas puras têm uma resposta imunológica T-independente, portanto não são indicadas para crianças com idade inferior a dois anos. Além disso, induzem memória imunológica de curta duração, tendo sua efetividade de proteção limitada devido à diminuição do nível de anticorpos presentes no sangue com o tempo, tanto em adultos como em crianças. As principais indicações para esse tipo de vacina são para grupos de alto risco ou em casos de surtos ou epidemias.⁴

Ao contrário das vacinas puras, as polissacarídicas conjugadas são ligadas covalentemente às proteínas de transporte, o que lhes confere resposta T-dependente e melhoria imunológica. As proteínas carreadoras utilizadas nas vacinas meningocócicas são o toxoide tetânico, o toxoide diftérico e a toxina diftérica mutante atóxica (CRM)₁₉₇. A principal vantagem desse tipo de vacina é a imunogenicidade em crianças, que constituem o grupo de maior incidência da doença, além da redução da colonização meningocócica na nasofaringe, diminuindo o número de portadores e, conseqüentemente, a transmissão do agente.⁴

Nos dias de hoje, ainda não existe uma vacina eficaz contra o meningococo B. O polissacarídeo meningocócico desse grupo é homolínear aos oligômeros α -(2→8) do ácido siálico ou ácido α -(2→8) N-acetilneuramínico, tornando-o um auto-antígeno. Somando-se a essa condição, o polissacarídeo é expresso em vários tecidos do hospedeiro e é pouco imunogênico, mesmo quando ligado a uma proteína carreadora.⁵

Histórico da doença meningocócica

A primeira descrição de uma epidemia de DM, denominada na época como meningite cérebro-espinhal, foi registrada em 1805 por Vieusseux, na Suíça, resultando em trinta e três mortes. No século XIX a doença era própria de tropas militares, espalhando-se por toda a Europa, com centenas de casos registrados ao ano, alcançando taxas de letalidade de 70 a 80%. Do ponto de vista epidemiológico, o número de casos na população civil era moderado e a mortalidade era relativamente baixa.⁶

O meningococo só foi descoberto em 1884 pelos patologistas italianos Machiavava e Celli, que o caracterizaram como um micrococo intracelular oval em uma amostra de líquido.⁷

Em 1887, Anton Weichselbaum, um bacteriologista austríaco, identificou a bactéria causadora da DM em seis de oito pacientes acometidos pela meningite bacteriana, nomeando-a de *Diplococcus intracellularis meningitidis*, o qual ficou conhecido como meningococo de Weichselbaum.^{6,7}

No Brasil, o primeiro caso registrado de meningite ocorreu em 1906, na cidade de São Paulo, após a identificação do meningococo de Weichselbaum pelo médico epidemiologista Adolfo Lutz, no material de necropsia de um imigrante europeu. Até o momento, a capital paulista sofreu três grandes epidemias.^{8,9}

As epidemias da DM ocorreram em todo o mundo devido a, pelo menos, sete grupos clonais distintos. Cepas pertencentes ao complexo clonal ET-37, originadas em meados de 1917, foram reportadas nos Estados Unidos, Brasil e China. Outra variante, relatada nos anos 80 nos Estados Unidos (ET-15), foi disseminada e causou surtos na década seguinte em Israel,

República Tcheca, Austrália, Inglaterra e Canadá.⁷

Em 1905, foi introduzido o primeiro tratamento bem sucedido para DM, o soroterápico. Utilizando um imunossoro específico produzido em cavalos e desenvolvido por Joachmann na Alemanha e Flexner na América, proporcionou redução acentuada da mortalidade da DM. Porém, os pacientes estavam sujeitos a contrair infecções com outras bactérias contaminantes e a desenvolverem sintomas da “doença do soro” e choque anafilático.^{6,7,9}

Em substituição à soroterapia, para o tratamento dos múltiplos surtos, as sulfonamidas foram introduzidas na década de 30, tanto na Europa como nas Américas. Eram utilizadas para a cura da DM, bem como no controle profilático de portadores assintomáticos e seu uso reduziu os índices de mortalidade para 10%.⁹

Na década de 1940, durante a segunda guerra mundial, foi introduzida a penicilina, relatada como fármaco eficaz e uma nova alternativa para o tratamento da DM. No Brasil, a penicilina foi introduzida em São Paulo na epidemia de 1947, o que foi um grande avanço na cura dos casos e no controle das epidemias.^{6,9}

Após 1980, a diminuição da sensibilidade à penicilina foi relatada em vários países (Espanha, Grécia, Suíça, Romênia, França, Bélgica, Reino Unido, Malauí, África do Sul, Canadá e Estados Unidos), recomendando-se o uso de cefalosporinas de amplo-espectro nesses casos.⁷

Patologia

O ser humano é o único portador da bactéria *N. meningitidis*. O meningococo fica aderido às células epiteliais da nasofaringe, até que ganhe acesso à corrente sanguínea, produzindo uma

infecção sistêmica. No sistema circulatório, as colônias bacterianas podem se multiplicar inúmeras vezes e invadir a barreira hemato-meníngea, infectando as meninges. Ao atingir níveis extremamente elevados, o meningococo induz uma forte resposta inflamatória com ativação da cascata da coagulação e do sistema complemento.¹⁰

Alguns antígenos de membrana, como o lipo-oligosacárido (LOS), são os principais indutores do sistema imunológico humano. A presença dessas proteínas provoca a secreção de citocinas, quimiocinas e outras substâncias no organismo hospedeiro, podendo causar danos epiteliais, rompimento de capilares sanguíneos, necrose de tecidos periféricos e falência múltipla de órgãos.¹⁰

As formas da doença são meningite e septicemia, com ou sem meningite. Por também apresentar formas localizadas como artrite, pneumonia, sinusite, traqueíte, faringite, entre outras, pode ser diagnosticada apenas clinicamente, sendo raramente associada à *N. meningitidis*. A resposta natural à bactéria no quadro séptico meningocócico caracteriza-se por mal-estar súbito, febre alta, calafrios, prostração e manifestações hemorrágicas na pele, como petéquias e equimoses. Em alguns indivíduos, a doença pode ocorrer na forma fulminante, levando à morte em poucas horas se não houver a introdução de uma terapêutica precoce e eficaz.^{11,12}

Na ocorrência de casos da DM, é necessária a notificação compulsória e investigação imediata, sendo estes divididos em dois grupos: suspeitos e confirmados. Os suspeitos maiores de um ano e adultos apresentam sinais e sintomas da doença. Para menores de um ano considera-se irritabilidade, choro persistente e

abaulamento de fontanela. Para a confirmação dos casos, são realizados exames laboratoriais e investigação epidemiológica para detectar possível vínculo com casos confirmados laboratorialmente ou com bacterioscopia positiva e clínica sugestiva.¹²

Por causa do elevado risco de morbidade e mortalidade, os pacientes suspeitos de DM devem ser imediatamente submetidos à antibioticoterapia. Dentre os antimicrobianos, o mais usado e eficaz contra o meningococo é a penicilina. Em alguns casos, os antibióticos rifampicina, ciprofloxacina e ceftriaxona são utilizados para erradicação bacteriana da nasofaringe. Pessoas com contato próximo podem transmitir e carrear as mesmas cepas do meningococo devido ao contato direto. Nesse caso, indica-se a quimioprofilaxia aos comunicantes na tentativa de evitar a transmissão da bactéria pelos portadores.^{1,13}

Incidência

Considerando a alta taxa de portadores do meningococo, a incidência da DM pode ser diferente em diversas partes do mundo, apresentando de 1 a 1.000 casos por 100.000 habitantes. Indivíduos imunocompetentes são mais resistentes ao desenvolvimento da doença, exceto aqueles que tenham alguma deficiência no sistema complemento.¹⁴

Por se apresentar sob a forma de ondas epidêmicas, a doença causada pela bactéria *N. meningitidis* é a mais importante para a saúde pública. Além das epidemias, que podem durar de dois a cinco anos, a DM é distribuída universalmente e os casos podem ocorrer durante o ano todo na forma endêmica da doença.¹⁰

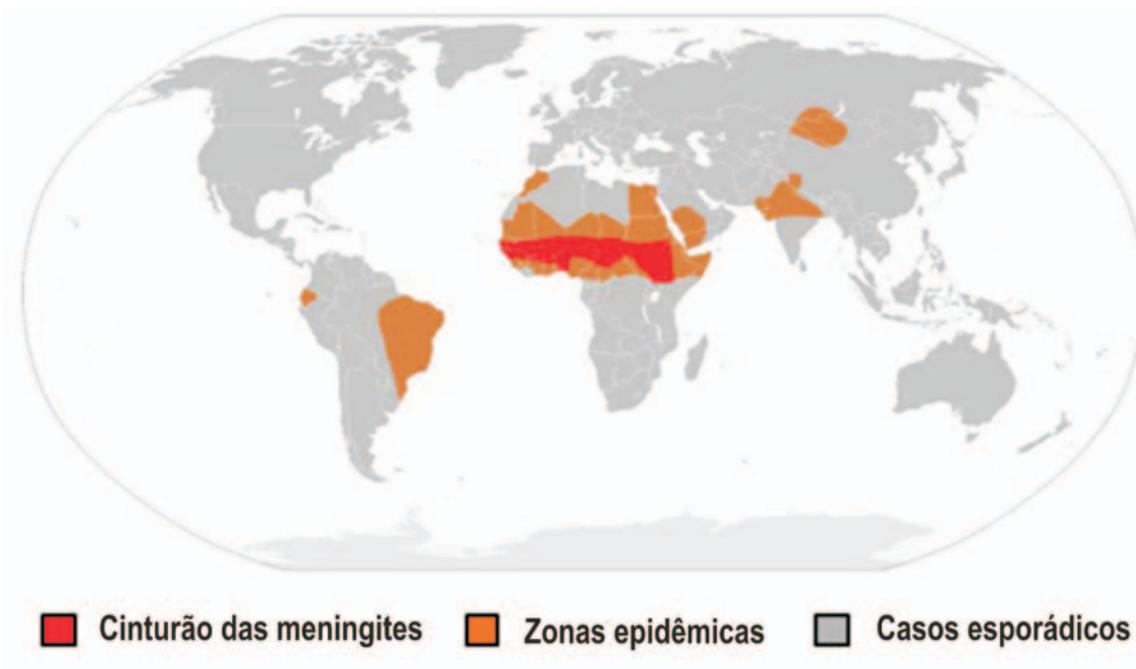
As condições climáticas também exercem papel fundamental na incidência da DM. Os picos

epidêmicos ocorrem durante épocas de baixa umidade absoluta, durante o inverno e estações de seca. Na região do cinturão das meningites, no norte da África, que se estende do Senegal à Etiópia, assim como na maioria dos países em desenvolvimento, conforme distribuição demográfica da doença apresentada na Figura 1, os relatos das doenças transmissíveis são geralmente tardios e incompletos, subestimando o número real de casos. Recentemente, a incidência tem aumentado na África, sugerindo o surgimento de uma nova onda epidêmica na região subsaariana.^{15,16}

Segundo relatórios da Organização Mundial de Saúde (OMS), a definição de epidemia no cinturão africano das meningites é de mais de 100 casos por 100.000 habitantes ao ano. Em países endêmicos, incidências de mais de 10 casos, 2 a 10 casos e menos de 2 casos por 100.000

habitantes ao ano caracterizam alta, moderada e baixa endemicidade, respectivamente. Um surto localizado fora da região do cinturão das meningites pode ser definido como um aumento significativo da incidência da DM em uma população, segundo as perspectivas para a época e o local.¹⁰

No Brasil, a bactéria *N. meningitidis* é o principal agente causador das meningites, sendo a região sudeste responsável pela maioria dos casos, cujos dados estão dispostos na Tabela 1. A região lidera o número de casos notificados com 4.061 notificações da DM dentre as 6.616 registradas no país, no período de 2007 a 2013.¹⁷ As taxas de letalidade são maiores do que em países desenvolvidos e variam pouco entre os diferentes estados, prevalecendo entre as crianças menores de um ano e adultos com mais de quarenta anos.¹⁵



Fonte: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Meningitis-Epidemics-World-Map.png>

Figura 1. Demografia da meningite meningocócica no mundo

Tabela 1. Número de casos da DM no Brasil, segundo região e ano, 2007-2013

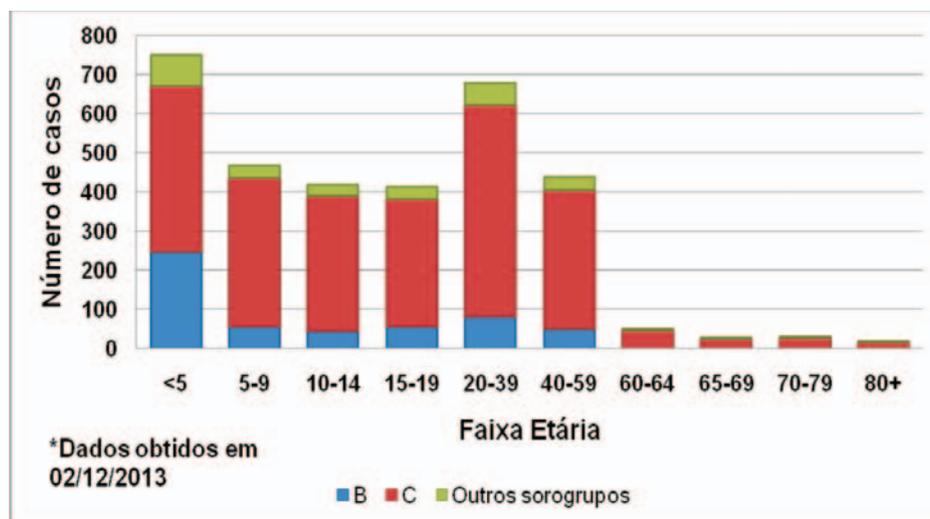
Região/Ano	2007	2008	2009	2010	2011*	2012*	2013**	Total
Norte	47	55	65	36	34	32	14	283
Nordeste	194	203	213	179	180	210	35	1.214
Centro Oeste	53	80	74	92	66	62	20	447
Sudeste	500	641	651	684	713	641	231	4.061
Sul	116	124	101	93	94	60	23	611
Total	910	1.103	1.104	1.084	1.087	1.005	323	6.616

Dados obtidos em 05/02/2013 *dados sujeitos à revisão **dados parciais

Fonte: SinanNet, 2013

A maior incidência da DM no mundo ocorre em crianças menores de cinco anos. Nessa faixa etária, na forma endêmica ou epidêmica, o maior número de casos está nos lactentes de 6 a 24 meses de idade. Fatores de risco estão associados à prevalência da doença nesse grupo, dentre os quais se destacam a prematuridade, o baixo peso ao nascimento e a presença de infecção prévia no recém-nascido.^{15,18}

No Brasil, no período de 2007 a 2013, desconsiderados os valores sem confirmação de sorogrupo ou faixa etária, foram registrados 3.305 casos da doença meningocócica. A faixa etária mais atingida é a de crianças com menos de cinco anos com 752 casos e o meningococo B continua sendo o segundo sorogrupo mais prevalente no país com 555 casos contra 2.473 do sorogrupo C no período (Figura 2).¹⁷



Dados de 2011 e 2012 sujeitos à revisão – Dados parciais de 2013

Fonte: SinanNet, 2013

Figura 2. Casos de meningite no Brasil, confirmados segundo faixa etária e sorogrupo, 2007 a 2013

Epidemiologia do meningococo B

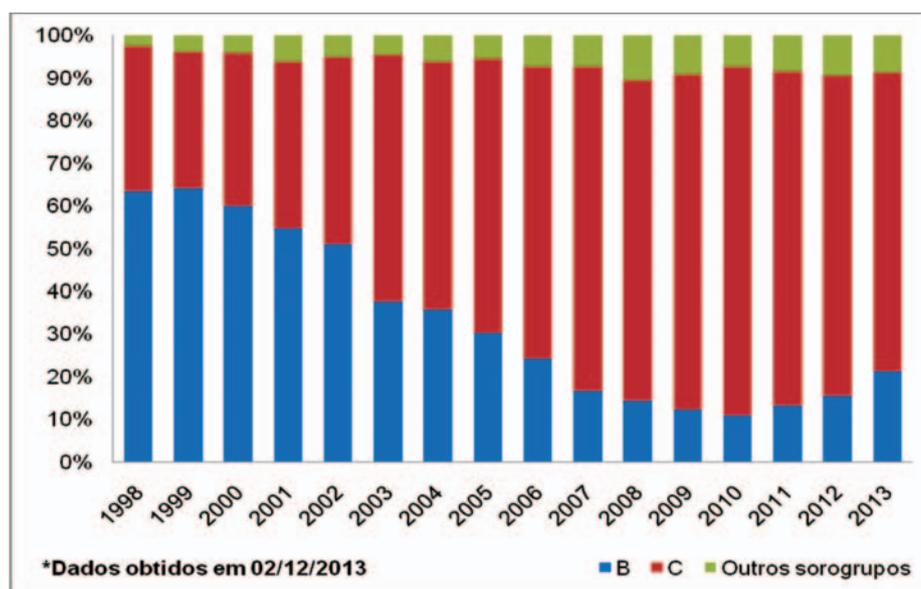
A bactéria *N. meningitidis* sorogrupo B é predominante nas Américas e constante ameaça em todo o mundo, sendo responsável por grande número de casos da DM. Na segunda metade do século XX, com o desenvolvimento de vacinas mais eficazes contra os sorogrupos A e C, o meningococo B emergiu como principal agente causador de epidemias na Europa e Américas. Em seguida, ocorreram surtos em outros países, como Turquia, Brasil, Holanda, Bélgica e Nova Zelândia. Estudos recentes também indicam que o sorogrupo B foi reportado como dominante nos países asiáticos Japão e Taiwan.¹⁹

Durante o período de 2000 a 2007, foram detectados 22 surtos da DM no Brasil, todos causados pelos sorogrupos circulantes B e C. O sorogrupo B foi responsável por um surto, enquanto os demais foram causados pelo sorogrupo C, que constitui o de maior incidência atualmente no país.¹²

No Estado de São Paulo, o meningococo B é o segundo sorogrupo mais prevalente, tendo sido responsável pelo maior número de casos da DM de 1998 a 2002 (Figura 3). Considerados os dados de surtos registrados nos últimos anos (2010-2013), sua taxa de incidência tem aumentado gradualmente, porém é ainda três vezes menor do que a do meningococo C, atualmente o principal sorogrupo envolvido.²⁰

Características moleculares

Homopolímero do ácido siálico, o polissacarídeo do meningococo B é derivado do ácido neuramínico, que possui o radical N-acetil, N-glicosil ou N, O-diacetil ligado a um aminogrupo. Esse polissacarídeo é semelhante ao da bactéria *Escherichia coli* K1, agente etiológico de meningites em recém-nascidos. Apesar de possuírem cadeias de ácido siálico com ligações α -(2→8), na *E. coli* K1 existem grupamentos orto-acetil ligados aos átomos de carbono C7 e C9.^{21,22}



Fonte: CVE, 2013

Figura 3. Prevalência de sorogrupos no Estado de São Paulo, 1998 a 2013

Para a caracterização das cepas de meningococo, no final da década de 1990 foi desenvolvido o sequenciamento multilocus (MLST, do inglês: *Multilocus Sequence Typing*). O método, que é altamente confiável e reprodutível, avalia a variação genética das cepas utilizando o sequenciamento de nucleotídeos. Foi adotado como referência para genotipagem de *N. meningitidis* por muitos cientistas do mundo, o que levou ao sucesso do método e ao consequente desenvolvimento de sequenciamentos similares para outros numerosos patógenos bacterianos.¹⁴

A classificação dos antígenos de superfície variáveis da bactéria *N. meningitidis* é fundamental para a vigilância epidemiológica e o desenvolvimento de vacinas. O esquema de caracterização sorológica dos meningococos compreende grupos, com base nas variantes do polissacarídeo capsular; tipos, com base nas variantes da proteína de membrana externa (OMP, do inglês: *Outer Membrane Protein*) PorB; subtipos, baseados nas variantes da OMP PorA; e imunotipos, baseados nas variantes lipopolissacarídicas.²³

Além disso, algumas bactérias Gram-negativas como *N. meningitidis* formam vesículas de membrana externa (OMV, do inglês: *Outer Membrane Vesicle*), que são utilizadas potencialmente para vacinologia e antibioticoterapia. Essas vesículas desempenham um importante papel no fator de virulência bacteriano em células hospedeiras e modula os mecanismos de defesa e resposta imunológica.^{24,25}

Dentro desse esquema, para a designação de um subtipo meningocócico é atribuído o prefixo “P1” proveniente da OMP PorA, também conhecida como OMP de classe 1,

seguido de números separados por vírgulas, que correspondem aos subtipos (P1.7,16 por exemplo). As duas regiões variáveis existentes em PorA (VR1 e VR2) são importantes porque induzem a produção de anticorpos bactericidas em humanos.²³

Os isolados meningocócicos caracterizados geneticamente mostram que clones e linhagens estão associados com níveis de patogenicidade. O tamanho e a duração dos surtos da DM são determinados pela capacidade patogênica e média do período de transporte de cepas hiper-invasivas. Tais surtos, na grande maioria, são decorrentes de cepas hiper-invasivas pouco patogênicas, já que as variantes mais patogênicas têm maior chance de desaparecimento rápido na população.²⁶

A constatação de que as proteínas citoplasmáticas da membrana interna meningocócica são significativamente mais conservadas do que as da membrana externa sugere que os meningococos do sorogrupo B desenvolveram a conversão de genes como alternativa para escapar do sistema imunológico humano. Essa modificação pode não só alterar a superfície de certas proteínas, mas também afetar a interação com células receptoras hospedeiras, modificando a sua virulência. Essa descoberta pode explicar os diferentes potenciais patogênicos de cepas de *N. meningitidis*, sustentando o conceito da natureza poligênica na virulência da bactéria.²⁷

Vacinas

As primeiras vacinas contra os meningococos surgiram durante epidemias na África e Ásia no final do século XIX. Eram constituídas de células íntegras de

meningococos inativadas por calor. A vacina, de uso intramuscular e endovenoso, tinha pouca eficiência e causava problemas de toxicidade e necrose no local de aplicação. Somente nos anos 1960 foram desenvolvidas vacinas obtidas de extrato purificado do polissacarídeo capsular meningocócico. Embora tivessem fraca imunogenicidade e um curto período de proteção, as vacinas da época permitiram o controle epidemiológico da doença. Ainda assim, mesmo com a evolução nas pesquisas, não era possível a completa erradicação da bactéria em razão da diversidade fenotípica dos meningococos disseminados mundialmente.⁶

No meningococo B, a resposta do sistema imune é ausente devido à tolerância imunológica causada pela semelhança do polissacarídeo capsular com o ácido siálico de fórmula α -(2→8)-N-acetil-neuramínico presentes em glicoproteínas humanas. Como a imunogenicidade do polissacarídeo meningocócico está associada com o grau de ligação do polímero às OMP, as tentativas de produção da vacina concentram-se nessas proteínas meningocócicas.^{28,29}

O desenvolvimento potencial de novas vacinas, no entanto, barra na necessidade do estudo de várias cepas meningocócicas distintas. A complexibilidade do uso de vacinas baseadas em PorA é que essas OMP podem sofrer deleções gênicas e assim escaparem do sistema imunológico, caso atuem como antígenos vacinais primários do processo.⁴

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um estudo de revisão sobre as condições e desafios para a produção de uma vacina eficaz contra a bactéria *N. meningitidis* sorogrupo B, ainda não existente até o momento.

MATERIAL E MÉTODO

Tratou-se de um estudo retrospectivo elaborado com base em artigos e revistas científicas, portais eletrônicos, manuais e legislação. Utilizou-se as seguintes bases de dados: MEDLINE, LILACS, SciELO, BVS e PubMed. Os unitermos pesquisados foram: doença meningocócica, *Neisseria meningitidis*, vacina e sorogrupo B.

Os artigos selecionados foram aqueles que abordavam os conceitos da doença meningocócica e as atualizações sobre o desenvolvimento de vacinas contra o meningococo do sorogrupo B.

O assunto de vacinas contra o meningococo do sorogrupo B foi tratado reunindo estudos publicados em periódicos especializados, no período de 1971 a 2013.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das vacinas testadas contra o meningococo B, produzida em Cuba e denominada VA-MENGOC-BC[®], contém 50µg das OMP do meningococo B:4:P1.15 combinado com 50µg do polissacarídeo capsular do sorogrupo C. É enriquecida com proteínas de peso molecular 65 a 95KDa e adsorvida ao hidróxido de alumínio, um adjuvante que estabiliza o conjugado polissacarídeo-proteína.^{30,31}

A aplicação recomendada para a vacina VA-MENGOC-BC[®] é de duas doses intramusculares no intervalo de seis a oito semanas. Quando utilizada em Cuba, de 1987 a 1989, conferiu eficácia protetora de 83% em 106.256 estudantes de dez a quatorze anos de idade.³⁰ A mesma vacina, aplicada na Grande

São Paulo em 2,4 milhões de crianças de três meses a seis anos de idade, durante a epidemia do sorogrupo B em 1989 e 1990, não ofereceu a mesma proteção. A eficácia foi de 74% em crianças com mais de quatro anos de idade, enquanto as mais novas tiveram apenas 37% de proteção.³¹

Ainda, no ano de 1990, a vacina VA-MENGOC-BC[®] foi utilizada para controlar o aumento da incidência do meningococo B em crianças de seis meses a nove anos no Rio de Janeiro. Cerca de 1,6 milhão de crianças foram vacinadas e a proteção conferida foi de 74% nas residentes da capital fluminense.³²

No mesmo ano, outra vacinação ocorreu em Santa Catarina, prolongando-se até 1992. Os resultados mais uma vez não foram homogêneos para as diferentes faixas etárias, tendo 68% de eficácia protetora para crianças menores de quatro anos e 71% para o grupo de quatro a sete anos de idade.³³ Outros países também realizaram vacinações com fórmulas similares à VA-MENGOC-BC[®] cubana, sendo que na Islândia a proteção foi de apenas 15%, enquanto no Chile a atividade bactericida foi de 50%.⁶

Apesar de resultados não tão satisfatórios nas aplicações de VA-MENGOC-BC[®], há afirmações de que a eficácia protetora da vacina cubana em crianças menores de quatro anos no Brasil foi subestimada. A pesquisa sugere que o uso de controles da comunidade foi inadequado, pois no período de coleta dos dados apenas os indivíduos internados e atendentes estavam vacinados. Além disso, uma comissão cubano-brasileira revisou os dados após as campanhas de vacinação nos estados, concluindo que a proteção para o grupo etário de seis meses a sete anos foi de 72% contra o meningococo B.³⁴

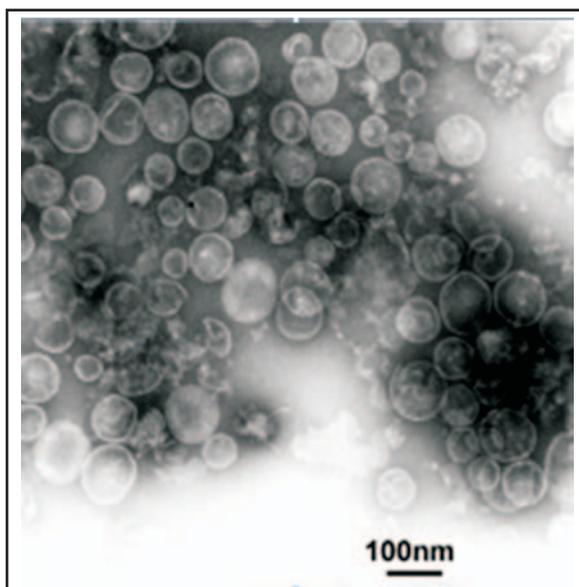
Uma questão controversa sobre a VA-MENGOC-BC[®] está no fato de que foi utilizada em países com cepas circulantes heterólogas às da vacina. Apesar disso, estudos realizados *in vitro* mostraram que na existência de cepas heterólogas, a reatividade cruzada era positiva, sugerindo alguma proteção contra surtos desses meningococos. Como há complexas estruturas na formulação da vacina, outros mecanismos imunes, em adição aos anticorpos bactericidas, podem ser efetivos contra cepas distintas às da vacina.³⁵

Na Holanda, houve a tentativa de realizar experimentos com uma vacina hexavalente baseada na OMV bacteriana, composta por duas cepas modificadas que correspondiam a três subtipos específicos cada (P1.7,16; P1.5,2; P1.19,15; P1.7h,4; P1.5c,10 e P1.12,13). Estas foram testadas em adultos voluntários, mas a imunização foi eficiente em apenas 50% dos indivíduos, evidenciando falha no desenvolvimento de uma vacina efetiva contra PorA.³⁶

Em outro grupo, pesquisadores investigaram a possível produção da vacina composta pela mistura de dois polissacarídeos distintos. Para isso, utilizaram a bactéria *Escherichia coli* K92 que contém tanto a ligação α -(2→8) do meningococo B como a ligação α -(2→9) presente no meningococo C. A vacina, sintetizada com as cápsulas polissacarídicas conjugadas ao toxoide tetânico, induziu a resposta imunológica T-dependente e a produção de anticorpos contra os dois sorogrupos meningocócicos em ratos. Apesar de aparente eficácia, não foram realizadas novas investigações nessa linha de pesquisa, impossibilitando o seu desenvolvimento.³⁷

Uma alternativa às vacinas polissacarídicas é a utilização das vacinas baseadas nas OMVs.

Essas vesículas podem ser isoladas ou obtidas pelo crescimento bacteriano em meio de cultura (Figura 4) e são tratadas com detergentes para diminuir a atividade da endotoxina. Originada das moléculas de PorA provenientes de uma ou mais cepas, esse tipo de vacina tem uma limitação pois pode haver resistência aos anticorpos, devido à alta variabilidade antigênica das porinas meningocócicas. Considerando que recém-nascidos e crianças não possuem proteção efetiva contra exposições a antígenos bacterianos, a aplicação mais indicada e segura da vacina para essa faixa etária somente é considerada viável no caso de epidemias.⁵



Fonte: Adaptado de dados da literatura.⁵ Reproduzido de Granoff DM. Review of meningococcal group B vaccines. Clin Infect Dis. 2010; 50(2): 54-65].

Figura 4. Fotografia eletrônica de OMV da bactéria *N. meningitidis*

Por outro lado, uma estratégia promissora para a obtenção de uma vacina contra o meningococo B parece ser a vacinologia reversa. Em 2000, uma pesquisa se tornou um marco para esse método inovador. Proteínas antigênicas que são conservadas em todas as cepas foram

detectadas pelo sequenciamento genômico da bactéria. A descoberta deu perspectiva aos cientistas, mostrando que a produção de uma vacina universal contra o meningococo B é possível devido à conservação das sequências antigênicas entre as diferentes cepas.^{38,39}

Um dos antígenos mais promissores é a fHbp, uma lipoproteína de superfície presente em todas as cepas da *N. meningitidis*. Sua função mais importante é a de se ligar à proteína do sistema complemento humano fH (fator H), decompondo proteínas do hospedeiro e contribuindo para a inativação dessa cadeia do sistema imune. Casos de indivíduos que tiveram seus níveis de fH aumentados por características genéticas, demonstraram alta suscetibilidade de desenvolverem a DM.⁵

A proteína fHbp contém diferentes combinações de cinco segmentos variáveis, cada qual derivado de uma linhagem genética. Considerando a grande quantidade de segmentos, os cinco classificados como principais antígenos contra o meningococo B são GNA2132 (posteriormente renomeado como NHBA), GNA1030, GNA2091, GNA1870 (fHbp) e NadA. Dentre os cinco, GNA1870, GNA2132 e NadA são responsáveis por maior resposta imunológica em ratos, mas a amplitude de proteção dos anticorpos anti-fHbp contra cepas que expressam essas variantes devem ser determinadas em humanos para a completa avaliação.^{28,5}

Trabalhos recentes mostram que os cinco antígenos descobertos e selecionados pela vacinologia reversa, quando utilizados individualmente, não provocaram resposta imunológica que conferisse proteção contra todas as cepas analisadas.²⁸

Os pesquisadores, conseqüentemente, resolveram fundir todas as proteínas antigênicas em uma única partícula para analisar a eficácia da nova vacina. Para testar a indução de proteção contra a maioria das cepas do sorogrupo B, foram coletadas 214 em todo o mundo, das quais 85 foram consideradas adequadas para os testes. Amostras de soros foram obtidas pela imunização de ratos com a partícula formulada com hidróxido de alumínio, e testadas em um ensaio bactericida contra as 85 linhagens.²⁸

Os resultados foram promissores, sendo que 66 de 85 (77,7%) das cepas testadas foram mortas em diluições séricas maiores ou iguais a 1/128, título que se correlaciona a um possível resultado positivo no uso do sistema complemento humano. O valor de aproximadamente 78% é encorajador, considerando que se contrapõe aos resultados anteriores baseados no uso de OMV de cepas norueguesas e neozelandesas, que apresentaram poder bactericida de 20% e 21,2%, respectivamente.²⁸

De setembro de 2006 a fevereiro de 2007, considerados os resultados promissores nos testes pré-clínicos e de fase I, outro teste foi realizado quando um grupo de pesquisadores administrou a partícula antigênica, nomeada vacina rMenB, em testes de fase II. Para isso, recém-nascidos saudáveis de até dois meses de idade foram divididos em grupos, cada qual recebendo uma forma diferente da vacina, rMenB acrescida ou não da OMV proveniente da cepa meningocócica neozelandesa. A administração ocorreu após intervalos de 2, 4, 6 e 12 meses ou somente no décimo segundo mês. Após este período, foi observada boa tolerância e imunogenicidade da vacina no grupo estudado, apesar desta apresentar baixa resposta em cepas que expressavam variantes

heterólogas do fHbp e nos indivíduos que receberam uma única dose aos doze meses.⁴⁰

Os resultados se mostraram satisfatórios, apesar de efeitos adversos como febre e eritema após a aplicação. A vacina, renomeada 4CMenB (fHbp, NadA, NHBA e OMV), exibiu um bom potencial de imunização, aumentando a proteção primária de recém-nascidos contra o meningococo B.⁴¹⁻⁴³

Como parte final das pesquisas, a fase III do estudo clínico foi iniciada no continente europeu. Para isso, 3.630 crianças receberam imunização com três lotes da vacina 4CMenB durante os 2, 4 e 6 meses de idade. Os participantes foram distribuídos aleatoriamente para receber a vacina 4CMenB, a vacina meningocócica C conjugada com as vacinas de rotina ou somente as vacinas de rotina. Mais uma vez, a reatogenicidade do grupo imunizado com a vacina 4CMenB foi maior do que aos de outras vacinas, porém em um padrão aceitável, que conferisse proteção satisfatória nos recém-nascidos.⁴⁴

Em um estudo mais recente, adolescentes chilenos também participaram de pesquisas com a potencial vacina. Grupos de 11 a 17 anos de idade receberam 1, 2 ou 3 doses de 4CMenB durante o intervalo de 1, 2 ou 6 meses. Após a análise dos resultados, ficou comprovado que o esquema vacinal que oferece melhor proteção contra a infecção meningocócica foi o de duas doses, no intervalo de 1-6 meses.⁴⁵

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para que a vacina contra a DM seja efetiva, é necessário que esta tenha propriedades fundamentais que garantam a proteção dos diversos grupos etários da população. A

segurança na aplicação, imunogenicidade duradoura e amplo espectro de ação, quando considerados os vários sorogrupos, são características que contribuem para a constante vigilância e controle da doença.

A vacinação contra o meningococo B, que induz a tolerância imunológica em razão da semelhança do seu polissacarídeo capsular com proteínas humanas, ainda é um desafio. As tentativas do desenvolvimento são eficientes somente em casos de proteção de jovens e adultos, quando a incidência da DM em crianças menores que cinco anos de idade é de aproximadamente 29%. Além disso, a variabilidade antigênica das cepas bacterianas impede a proteção em larga escala das vacinas até hoje produzidas.

O método inovador da vacinologia reversa, utilizado primeiramente em 2000, trouxe

esperança à comunidade científica, já que com o sequenciamento completo do genoma da bactéria *N. meningitidis* foi possível detectar regiões antigênicas conservadas nas diferentes cepas e sorogrupos do meningococo. Com o conhecimento dessas regiões, a possibilidade de fabricação de vacinas mais protetoras e duradouras aumentou, já que as moléculas presentes em todas as cepas podem conferir proteção não só contra o meningococo B, como a outros sorogrupos existentes.

Os resultados positivos do estudo de fase II e III com a promissora vacina 4CMenB sugerem que esta possa ser inserida nos calendários vacinais de todo o mundo. Outros testes clínicos com cepas do meningococo B de diversos países estão em andamento, a fim de se obter dados mais completos sobre a ampla cobertura e real eficácia da vacina 4CMenB.

REFERÊNCIAS

1. Cushing K, Cohn A. Meningococcal disease. In: Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. 4. ed. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2008.
2. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de Vigilância Epidemiológica. 7. ed. Brasília (DF); 2009.
3. Hill DJ, Griffiths NJ, Borodina E, Virji M. Cellular and molecular biology of *Neisseria meningitidis* colonization and invasive disease. *Clin Sci*. 2010;118(1): 547-64.
4. Harrison LH. Prospects for vaccine prevention of meningococcal infection. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(1):142-64.
5. Granoff DM. Review of meningococcal group B vaccines. *Clin Infect Dis*. 2010; 50(2):54-65.
6. Requejo HIZ. A meningite meningocócica no mundo: dois séculos de história das epidemias. São Paulo: Edições Inteligentes; 2004.
7. Manchanda V, Gupta S, Bhalla P. Meningococcal disease: history, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, antimicrobial susceptibility and prevention. *Indian J Med Microbiol*. 2006; 24(1):7-19.
8. Fonseca C, Moraes JC, Barata RB. O livro da meningite: uma doença ob a luz da cidade. São Paulo: Segmento Farma; 2004.

9. Requejo HIZ. Meningite meningocócica no Brasil - Cem anos de história das epidemias. *NewsLab*. 2005; 73:158-64.
10. Organização Mundial da Saúde. Meningococcal vaccines: WHO position paper, november 2011. *WER*. 2011; 86(47):521-40.
11. Stella-Silva N, Oliveira AS, Marzochi KBF. Doença meningocócica: comparação entre formas clínicas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(3):304-10.
12. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias. 8. ed. rev. Brasília (DF); 2010.
13. Kristiansen BE, Tveten Y, Jenkins A. Which contacts of patients with meningococcal disease carry the pathogenic strain of *Neisseria meningitidis*? A population based study. *Brit Med J*. 1998; 317(1):621-5.
14. Caugant DA, Maiden MCJ. Meningococcal carriage and disease – population biology and evolution. *Vaccine*. 2009; 27(4):64-70.
15. Bricks LF. Doenças meningocócicas – morbidade e epidemiologia nos últimos 20 anos: revisão. *Pediatria*. 2002; 24(3/4):122-31.
16. Choudhuri D, Huda T, Theodoratou E, Nair H, Zgaga L, Falconer R, et al. An evaluation of emerging vaccines for childhood meningococcal disease. *BMC Public Health*. 2011;11(3):29-43.
17. Ministério da Saúde, Sistema de Informação de Agravos de Notificação [base de dados na internet]. Meningite – casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan Net. Brasília (DF); 2013. [acesso em 11 fev. 2014]. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/>
18. Krebs VLJ, Taricco LD. Fatores de risco para meningite bacteriana no recém-nascido. *Arq Neuropsiquiatr*. 2004; 63(3-A):630-34.
19. Racloz VN, Luiz SJD. The elusive meningococcal meningitis serogroup: a systematic review of serogroup B epidemiology. *BMC Infect Dis*. 2010; 10(1):175-83.
20. Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE). Doença meningocócica: casos e porcentagens por sorogrupo no Estado de São Paulo – 1998 a 2013. São Paulo: Coordenadoria de Controle de Doenças, 2013. [acesso em 11 fev. 2014]. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/resp/dm_soro.htm
21. Liu TY, Gotschlich EC, Dunne FT, Jonssen EK. Studies on the meningococcal polysaccharides. II. Composition and chemical properties of the group B and C polysaccharides. *J Biol Chem*. 1971;246(15):4703-12.
22. Bhattacharjee AK, Jennings HJ, Kenny CP, Martin A, Smith ICP. Structural determination of the sialic acid polysaccharide antigens of *Neisseria meningitidis* serogroups B and C with carbon 13 nuclear magnetic resonance. *J Biol Chem*. 1975;250(5):1926-32.
23. Russell JE, Jolley KA, Feavers IM, Maiden MCJ, Suker J. PorA variable regions of *Neisseria meningitidis*. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(4):674-8.
24. Henry T, Pommier S, Journet L, Bernadac A, Gorvel JP, Llobès R. Improved methods for producing outer membrane vesicles in gram-negative bacteria. *Res Microbiol*. 2004;155(6):437-46.
25. Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the host pathogen interaction. *Genes Dev*. 2005;19(1):2645-55.

26. Stollenwerk N, Maiden MCJ, Jansen VAA. Diversity in pathogenicity can cause outbreaks of meningococcal disease. *Proc Natl Acad Sci.* 2004;101(27):10229-34.
27. Joseph B, Schneiker-Bekel S, Schramm-Glück A, Blom J, Claus H, Linke B, et al. Comparative genome biology of a serogroup B carriage and disease strain supports a polygenic nature of meningococcal virulence. *J Bacteriol.* 2010; 192(20):5363-77.
28. 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.* 2006; 103(29):10834-9.
29. Requejo HIZ. Comportamento imunológico das vacinas anti-meningocócicas. *Rev Saúde Pública.* 1997;31(4):402-16.
30. Sierra GV, Campa HC, Varcacel NM, Garcia IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF, et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. *NIPH Ann.* 1991;14(2):195-207.
31. Moraes JC, Perkins PA, Camargo MCC, Hidalgo NTR, Barbosa HA, Sacchi CT, et al. Protective efficacy of a serogroup B meningococcal vaccine in Sao Paulo, Brazil. *The Lancet.* 1992;340(1):1074-8.
32. Noronha CP, Struchiner CJ, Halloran ME. Assessment of the direct effectiveness of BC meningococcal vaccine in Rio de Janeiro, Brazil: a case-control study. *Int J Epidemiol.* 1995;24(5):1050-7.
33. Costa EA, Martins H, Klein CH. Avaliação da proteção conferida pela vacina antimeningocócica BC no Estado de Santa Catarina, Brazil, 1990/92. *Rev Saúde Pública.* 1996;30(5):460-70.
34. Costa EA. On the controversy about the efficacy of the antimeningococcal B vaccine: methodological pitfalls. *Cad Saúde Pública.* 1995;11(2):332-5.
35. Padrón FS, Huelgo CC, Gil VC, Díaz EMF, Valdespino IEC, Gotera NG. Cuban meningococcal BC vaccine: experiences & contributions from 20 years of application. *MEDICC Rev.* 2007;9(1):16-22.
36. Peeters CC, Rümke HC, Sundermann LC, Van der Voort EMR, Meulenbelt J, Schuller M, et al. Phase I clinical trial with a hexavalent PorA containing meningococcal outer membrane vesicle vaccine. *Vaccine.* 1996;14(10):1009-15.
37. Devi SJN, Robbins JB, Schneerson R. Antibodies to poly[(2→8)- α -N-acetylneuraminic acid] and poly[(2→9)- α -N-acetylneuraminic acid] are elicited by immunization of mice with *Escherichia coli* K92 conjugates: potential vaccines for groups B and C meningococci and *E. coli* K1. *Proc Natl Acad Sci.* 1991;88(1): 7175-79.
38. Vivona S, Bernante F, Filippini F. NERVE: New Enhanced Reverse Vaccinology Environment. *BMC Biotechnology.* 2006;6(35):1-8.
39. Sáfadi MAP, Barros AP. Vacinas meningocócicas conjugadas: eficácia e novas combinações. *J Pediatr.* 2006;82(3):35-44.
40. 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(10):1127-37.
41. Snape MD, Dawson T, Oster P, Evans A, John TM, Ohene-Kena B, et al. Immunogenicity of two investigational serogroup B meningococcal vaccines in the first year of life: a randomized comparative trial. *Pediatr Infect Dis J.* 2010;29(11): 71-9.

42. Bai X, Findlow J, Borrow R. Recombinant protein meningococcal serogroup B vaccine combined with outer membrane vesicles. *Expert Opin Biol Ther.* 2011; 11(7):969-85.
43. Gossger N, Snape MD, Yu LM, Finn A, Bona G, Esposito S, et al. Immunogenicity and tolerability of recombinant serogroup B meningococcal vaccine administered with or without routine infant vaccinations according to different immunization schedules. *JAMA.* 2012;307(6):573-82.
44. Vesikari T, Esposito S, Prymula R, Ypma E, Kleinschmidt A, Toneatto D, et al. Use of an investigational multicomponent meningococcal serogroup B vaccine (4CMenB) in a clinical trial in 3630 infants. *Arch Dis Child.* 2011; 96 Suppl. 1 A3.
45. Santolaya ME, O’Ryan ML, Valenzuela MT, Prado V, Vergara R, Muñoz A, et al. Immunogenicity and tolerability of a multicomponent meningococcal serogroup B (4CMenB) vaccine in healthy adolescents in Chile: a phase 2b/3 randomised, observer-blind, placebo-controlled study. *Lancet.* 2012;379(9816):617-24.

Correspondência/Correspondence to

Ivete Aparecida Zago Castanheira de Almeida
Rua Alberto Sufredine Bertoni, 2325 – Maceno
CEP: 15060-025
São José do Rio Preto, SP
E-mail: iazcalmeida@ial.sp.gov.br