

ANTICORPOS ANTIPOLISSACARÍDEO DE *NEISSERIA MENINGITIDIS*,  
GRUPOS A E C, EM VACINADOS E EM PACIENTES COM DOENÇA  
MENINGOCÓCICA PREVIAMENTE VACINADOS OU NÃO \*

Augusta Kiyomi TAKEDA \*\*  
Vinício Carlos ROSSI \*\*\*  
José Manoel de Paiva DINIZ \*\*  
Maria das Graças Fernandes ADELINO \*\*  
Augusto de Escragnoille TAUNAY \*\*

RIAL-A/427

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Anticorpos antipolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146, 1975/76.

RESUMO: A resposta ao estímulo antigênico e vacina polissacarídica antimeningocócica foi avaliada pela reação de hemaglutinação passiva em indivíduos de faixas etárias de 0 a maiores de 21 anos. A vacina polissacarídica A mostrou-se mais imunogênica do que a vacina polissacarídica C. Não foi encontrada reação cruzada entre o polissacarídeo A e C.

Na doença meningocócica, a reação mostrou-se específica para os dois grupos de meningococos, permitindo diagnóstico correto de muitos casos em que falharam as outras provas diagnósticas.

Em pacientes vacinados com a vacina antimeningocócica AC, que vieram a ter a doença, a reação de hemaglutinação passiva mostrou-se ineficaz como prova diagnóstica pois a maioria dos pacientes, quando apresentaram títulos hemaglutinantes, estes eram muito baixos, sem conversão sorológica ou, quando havia conversão, não foi possível averiguar se esta era devida à vacina ou à doença.

DESCRITORES: *Neisseria meningitidis*, sorogrupos A e C; meningite meningocócica; vacina polissacarídica meningocócica.

I N T R O D U Ç Ã O

A pesquisa de anticorpos antipolissacarídeos meningocócicos pela reação de he-

maglutinação passiva foi feita por vários autores<sup>1, 2, 3, 4, 7, 10</sup>, que demonstraram ser esta uma reação específica e de fácil execução.

\* Realizado na Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Do Hospital Infantil Cândido Fontoura, São Paulo, S.P.

CARBONARE *et alii*<sup>1</sup> verificaram que a técnica proposta por Gotschlich *et alii*, de extração do polissacarídeo grupo-específico de *Neisseria meningitidis*, poderia ser aplicada a vários outros grupos de meningococos, com a finalidade de obter um polissacarídeo grupo-específico, utilizável para reações diagnósticas das infecções meningocócicas. TAKEDA *et alii*<sup>10</sup> demonstraram ser a reação de hemaglutinação passiva, com hemácias sensibilizadas com polissacarídeo extraído de *N. meningitidis* do grupo C, específica não só para demonstrar a presença de anticorpos hemaglutinantes no sangue de indivíduos vacinados como também em doentes com a doença meningocócica por *N. meningitidis*, grupo C.

Com o recrudescimento em 1974 do surto de meningite meningocócica devido à brusca intromissão da *N. meningitidis* do grupo A, as mesmas técnicas foram utilizadas com o fim de verificar se a reação era bastante específica a ponto de permitir diferenciar sorologicamente os casos devidos a *N. meningitidis*, grupo A e grupo C. Para essa verificação foram utilizados soros de indivíduos de várias faixas etárias que haviam sido vacinados, assim como de pacientes com diagnóstico clínico de doença meningocócica, muitos dos quais já previamente vacinados.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Vacina utilizada

50 µg de polissacarídeo de *N. meningitidis* do grupo C\*.

50 µg de polissacarídeo de *N. meningitidis* do grupo A\*\*.

100 µg de polissacarídeo de *N. meningitidis* dos grupos A e C (50 µg de A e 50 µg de C)\*\*\*.

### Soros

a) *Resposta à vacina* — Foi avaliada em soros pareados de indivíduos pertencentes a vários grupos etários; estes soros foram colhidos antes da vacinação e 30 dias após a mesma.

b) *Resposta à doença meningocócica* — Foi avaliada em soros pareados de indivíduos com doença meningocócica, internados no Hospital Emilio Ribas, São Paulo, e no Hospital Infantil Cândido Fontoura, também em São Paulo; estes soros foram colhidos no ato da internação e por ocasião da alta.

### Reação de hemaglutinação passiva

Foi feita esta reação de acordo com a técnica descrita por TAKEDA *et alii*<sup>10</sup>. A concentração de polissacarídeo utilizado foi de 1,0 µg/ml para o polissacarídeo C e 0,58 µg/ml para o polissacarídeo A.

## RESULTADOS

Com o intuito de verificar a presença ou não da resposta inespecífica ou cruzada entre os polissacarídeos A ou C, meninas cuja idade variou de 7 a 17 anos foram divididas em 2 grupos. O grupo I foi vacinado com 50 µg de vacina antimeningocócica A e, 30 dias após, com a vacina antimeningocócica C; o grupo II recebeu somente a vacina antimeningocócica AC.

De acordo com a figura, a resposta imune do grupo I mostrou-se específica para o polissacarídeo A, não havendo alteração na resposta à vacina polissacarídica C; 30 dias após a vacinação com o polissacarídeo C não mostrou qualquer alteração nos títulos de anticorpos para o polissacarídeo A. Com relação ao grupo II, o resultado foi idêntico ao do grupo I, mostrando que um polissacarídeo não interfere com o outro, quando injetado simultaneamente.

\* Meningococcus group C vaccine, Merk Sharp & Dohme Research Labs., New Jersey and West Point, Pa., E.U.A.

\*\* Meningococcus group A vaccine, Inst. Mérieux, Lion, França.

\*\*\* Meningococcus group A e C vaccine, Inst. Mérieux, Lion, França.



O grau de imunogenicidade da vacina polissacarídica AC, em indivíduos normais de diferentes faixas etárias, está avaliado na tabela 1. De acordo com esta tabela, na faixa etária de 0 a 2 anos não foi demonstrada a existência de anticorpos específicos no sangue, antes da vacinação. Somente

5% dos componentes deste grupo desenvolveram anticorpos C específicos demonstráveis 30 dias após a vacinação e o título médio desses anticorpos foi de 19, ao passo que 56% deste grupo desenvolveram anticorpos A específicos, com o título médio de 16.

TABELA 1

*Teor de anticorpos hemaglutinantes antipolissacarídeos A e C antes e após a vacinação em indivíduos normais de diferentes faixas etárias*

Faixa etária	Reação de hemaglutinação passiva positiva					
	Número de indivíduos	Vacina aplicada	Antes da vacinação		Depois da vacinação	
			Percentagem %	Título Médio	Percentagem %	Título Médio
0 — 2 anos	46	A	0	0	56	16
	58	C	0	0	5	19
2 — 5 anos	73	A	0	0	57	32
		C	0	0	6	12
5 — 16 anos	182	A	32	16	95,4	81
		C	4,4	19	59,5	26
> 16 anos	850	A	15,6	15	91,7	90
		C	8,6	28	77,4	71

O mesmo foi verificado em crianças da faixa etária de 2 a 5 anos. Neste grupo, também não pôde ser detectada a presença de anticorpos hemaglutinantes pré-vacina tanto para A como para C. Trinta dias após a vacinação 57% destas crianças desenvolveram anticorpos específicos para polissacarídeos A, com título médio de 32, enquanto que, para o polissacarídeo C, apenas 6% responderam à vacina com título médio de 12.

Já na faixa etária de 5 a 16 anos, antes da vacinação, 32% destas crianças apresentaram anticorpos para o polissacarídeo A e 4,4% para o polissacarídeo C, sendo título médio, respectivamente, 16 e 19. Após a vacinação, 95,4% responderam ao polissaca-

rídeo A e 59,5% ao polissacarídeo C, com títulos médios de 81 e 26 respectivamente.

Em maiores de 16 anos, anteriormente à vacinação, 15,6% tinham anticorpos para o polissacarídeo A e 8,6% para o polissacarídeo C, com títulos médios de 15 e 28. Trinta dias após a vacinação, 91,7% responderam ao polissacarídeo A e 77,4% ao polissacarídeo C e os títulos médios foram de 90 e 71, respectivamente.

Como a reação de hemaglutinação passiva não se mostrou muito sensível em vacinados das faixas etárias abaixo de 3 anos, a mesma reação foi aplicada aos pacientes não vacinados, com diagnóstico clínico e laboratorial de meningite meningocócica, da mesma faixa etária, cujos resultados se encontram na tabela 2:

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Anticorpos antipolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146.

TABELA 2

*Pacientes de 0 a 3 anos com infecção meningocócica confirmada pelo exame do líquido cefalorraquidiano*

Faixa etária e N.º de casos	Líquido cefalorraquidiano			Soro	
	D.G.N.	Cultura	I.E.C.	s/conversão	c/conversão
	%	%	%	%	%
0 a 2 57	70,17	22,8	40,35	26,31	73,68
2 a 3 32	68,75	31,25	40,62	15,62	84,37

D.G.N. = diplococos Gram negativos  
I.E.G. = imunoeletroforese cruzada

A semelhança do que ocorre com os vacinados, a reação de hemaglutinação passiva também é específica quando se trata de doentes portadores de infecção meningocócica dos grupos A ou C, que tiveram

o diagnóstico clínico confirmado pelo isolamento e identificação do agente etiológico ou pela presença de polissacarídeos no líquido cefalorraquidiano, conforme demonstra a tabela 3:

TABELA 3

*Pacientes com meningite purulenta cujo agente etiológico foi identificado por cultura*

N.º de casos	Cultura positiva para	I.E.C. positividade %		H.P. positividade %	
		Polissacarídeo		Polissacarídeo	
		A	C	A	C
251	<i>N. meningitidis</i> Grupo A	100	0	100	0
249	<i>N. meningitidis</i> Grupo C	0	100	0	100
104	Outras bactérias	0	0	0	0

I.E.G. = imunoeletroforese cruzada  
H.P. = hemaglutinação passiva

A conversão sorológica pela reação de hemaglutinação passiva em pacientes de diferentes faixas etárias, com diagnóstico clínico de doenças meningocócica, vacinados e não vacinados, encontra-se na tabela 4.

Nos vacinados, a reação de hemaglutinação passiva, além de ser positiva somente para um número muito pequeno de casos, não apresentou variação significativa entre o título médio da primeira e da segunda

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Anticorpos antipolissacarídeo de *Neisseria meningitidis*, grupos A e C, em vacinados e em pacientes com doença meningocócica previamente vacinados ou não. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146.

TABELA 4

*Conversão sorológica pela reação de hemaglutinação passiva em pacientes de diferentes faixas etárias com diagnóstico clínico de doença meningocócica, vacinados e não vacinados*

Faixa etária	Vacinados	N.º de casos	Com conversão sorológica		Título médio	
			n.º	%	1.ª amostra	2.ª amostra
0 - 2 anos	Sim	108	13	12,03	13	14
	Não	247	62	25,10	14,6	51,5
2 - 5 anos	Sim	102	24	23,50	26,5	19,5
	Não	174	93	53,44	65	170
5 - 16 anos	Sim	237	40	16,87	37	45
	Não	169	97	57,39	33,5	221,5
16 - 72 anos	Sim	204	53	25,98	65,5	125
	Não	97	60	61,85	52,5	156

amostra, ao contrário do que se observou no grupo de não vacinados.

Dos 180 indivíduos que não apresentaram conversão sorológica, 71 (39%) não

mostraram, em resposta à vacina ou à doença, anticorpos hemaglutinantes, tanto na primeira como na segunda amostra de soro. (Tabela 5).

TABELA 5

*Presença ou ausência de anticorpos hemaglutinantes em indivíduos vacinados que tiveram doença meningocócica com comprovação laboratorial e não apresentaram conversão sorológica*

Faixa etária (anos)	Hemaglutinação passiva		Total
	Positiva n.º de casos	Negativa n.º de casos	
2	9 (36%)	16 (64%)	25
3 — 5	18 (51,43%)	17 (48,57%)	35
6 — 16	26 (63,40%)	15 (36,60%)	41
> 16	56 (71,00%)	23 (29,00%)	79
	109 —	71 —	180

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A reação de hemaglutinação passiva mostrou-se específica, não apresentando reação cruzada para o polissacarídeo A ou C, permitindo avaliar a resposta à vacina polissacarídica utilizada em separado ou em conjunto.

A vacina polissacarídica AC é pouco imunogênica para a faixa etária de 0 a 2 anos, melhorando com o progredir da idade, tanto para o polissacarídeo A como para o polissacarídeo C. Os títulos de anticorpos hemaglutinantes são sempre mais baixos para a vacina C do que para a vacina A à qual responde especificamente maior número de indivíduos.

Os anticorpos hemaglutinantes anteriores à vacinação foram evidenciados somente em faixas etárias superiores a dois anos, o que pode ser atribuído à falta de sensibilização prévia pela infecção natural.

Quanto à pouca resposta imunitária à vacina nas faixas etárias baixas, pode ser atribuída ao estado imunológico peculiar das crianças, específico dos antígenos polissacarídicos, pois, para que haja resposta ao antígeno polissacarídico, é necessário que este esteja associado a uma proteína ou a outros componentes que funcionem como coadjuvante, à semelhança do que ocorre nas infecções naturais; esta hipótese parece ser a mais provável, uma vez que em 57 crianças de 0 a 2 anos foi verificada conversão sorológica em 73,68% das mesmas (tabela 3), quando acometidas pela doença meningocócica.

A aparente discrepância entre os resultados mostrados nas tabelas 2, 3 e 4 deve-se ao fato de somente terem sido computados nas tabelas 2 e 3 aqueles pacientes nos quais, além do diagnóstico clínico, havia confirmação laboratorial de doença meningocócica.

Concluimos que a reação de hemaglutinação passiva é válida não só para avaliação da imunogenicidade da vacina antimeningocócica A, C ou AC (mista), em grupos etários superiores a 2 anos, como também para o diagnóstico da doença meningocócica, permitindo diferenciação dos dois grupos de meningococos. Nos doentes previamente vacinados com a vacina antime-ningocócica os resultados foram insatisfatórios pois, nos casos em que houve conversão dos títulos, foi difícil avaliar se era devido à vacina ou à doença.

Por outro lado, na tabela 4, comparando-se os títulos de anticorpos no ato da internação e no da alta destes pacientes, verificamos que muitas vezes não houve variação no título médio entre a 1.<sup>a</sup> e a 2.<sup>a</sup> amostras, qualquer que fosse a faixa etária. Isto leva a acreditar que a vacinação prévia pode ter um efeito imunossupressor específico na indução de formação de anticorpos hemaglutinantes em resposta à doença, capazes de reagir com o polissacarídeo, ou que indivíduos com baixa resposta à vacina seriam do grupo susceptível à doença.

A tabela 5, em que foram analisados indivíduos vacinados com diagnóstico laboratorial de doença meningocócica, pode comprovar que existe uma certa percentagem de indivíduos que não responde ao estímulo antigênico, quer da vacina quer da doença. Poderiam ser estes indivíduos considerados como geneticamente tolerantes a estes antígenos?

Apesar de não se poder afirmar que a presença de anticorpos hemaglutinantes significa proteção contra a doença, esta constatação representa um fato novo que está sendo objeto de outras investigações.

RIAL-A/427

TAKEDA, A.K.; ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F. & TAUNAY, A.E. — Antibodies to polysaccharide of *Neisseria meningitidis*, serogroups A and C in normal vaccinated persons and in patients with meningococcal disease previously vaccinated or not. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 35/36: 139-146, 1975/76.

**SUMMARY:** The response to the antigenic stimulus of meningococcal polysaccharide vaccine was evaluated through passive haemagglutination in individuals in the age group of 0 to older than 21 years old. Vaccine A was found to be more immunogenic than vaccine C. No cross reactions were found between A and C polysaccharides. The reaction proved to be specific for both groups of meningococcus, thus allowing correct diagnosis of meningococcal disease in many instances where other diagnostic test have failed. The passive haemagglutination was ineffective as a diagnostical test in patients who had been vaccinated with AC anti-meningococcal vaccine, because most of these patients presented low haemagglutinating titres without serological conversion and, when it was present, it was not possible to know whether it was due to the vaccine or to the disease.

**DESCRIPTORS:** *Neisseria meningitidis*, serogroups A and C; meningitis, meningococcal; vaccine, meningococcal polysaccharide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARBONARE, S.B.; TAKEDA, A.K. JORDÃO, F.B.M. & TAUNAY, A.E. — Especificidade imunológica dos polissacarídeos extraídos de diferentes grupos de *Neisseria meningitidis*. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 119-25, 1974.
2. COHEN, R.L. & ARTENSTEIN, M.S. — Hemagglutination inhibition for serogrouping of *Neisseria meningitidis*. *Appl. Microbiol.*, 23: 289-92, 1972.
3. EDWARDS, E.A. & DRISCOLL, W.S. — Group-specific hemagglutination test for *Neisseria meningitidis* antibodies. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 126: 876-9, 1967.
4. EICKHOFF, T.C. — Sero-epidemiologic studies of meningococcal infection with the indirect hemagglutination test. *J. infect. Dis.*, 123 (5): 519-26, 1971.
5. HAMMOND, B.W.; KINGSBURY, D.T. & WEISS, E. — Modification of meningococcal polysaccharide antigens for use in passive hemagglutination tests. *J. Immunol.*, 101: 808-9, 1968.
6. HUNTLEY, B. & REED, D. — An indirect hemagglutination test for group B meningococcus. *Am. J. Epidem.* 86: 142-8, 1967.
7. JONES, D.M. & TOBION, D.M. — Incidence of hemagglutination antibodies to meningococci in North-West England. *J. clin. Pathol.*, 25: 955-8, 1972.
8. ROSSI, V.C.; DINIZ, J.M.P.; ADELINO, M.G.F.; TAKEDA, A.K.; TAUNAY, A.E. & CANDIO, S. — Resposta humoral aos polissacarídeos obtidos da *N. meningitidis* dos grupos A e C utilizados na vacinação e revacinação antimeningocócica. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 37, 1977. [No prelo]
9. SANBORN, W.R. & VEDROS, N.A. — Possibilities of application of complement fluorescent antibody test to epidemiology fixation, indirect hemagglutination and of meningococcal infection. *Hyg. Lab. Sci.*, 3: 311-7, 1966.
10. TAKEDA, A.K. TAUNAY, A. E. SCALABRINI, L.G.P. & CASTRO, I.O. — Anticorpos antipolissacarídeo C de *Neisseria meningitidis*: detecção através da hemaglutinação passiva em soros de pacientes e de vacinados. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 127-33, 1974.

Recebido para publicação em 10 de dezembro de 1975.