

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

EFICACIA DE SEROCONVERSION Y DURACION DE LA INMUNIDAD DE LA VACUNA FRENTE AL MENINGOCOCO SEROGRUPO C. ESTUDIO INCLUIDO DENTRO DE LA EVALUACION DE LA VACUNACION MASIVA DE LA POBLACION DE LA COMUNIDAD DE MADRID COMPRENDIDA ENTRE 18 MESES Y 19 AÑOS DE EDAD

Rosa Ramírez Fernández.

Dirección General de Prevención y Promoción. Consejería de Sanidad y Servicios Sociales de la Comunidad de Madrid, Instituto de Salud Carlos III y Dirección Provincial del Insalud de Madrid.

JUSTIFICACIÓN

El estudio que se plantea forma parte de las actividades de control y evaluación de la vacunación masiva de la población comprendida entre 18 meses y 19 años de edad de la Comunidad Autónoma de Madrid. Dicho estudio no tiene sentido independientemente, sino que debe ser entendido como un elemento más para valorar la situación epidemiológica de la enfermedad meningocócica por serogrupo C tras la vacunación en nuestra Comunidad. Diversos estudios se llevarán de manera paralela al de eficacia de la seroconversión y duración de la inmunidad, como son el de cobertura de vacunación, reacciones adversas y eficacia clínica de la vacuna.

La vacuna de polisacárido capsular para el meningococo serogrupo C se ha utilizado de forma extensa en el control de brotes de enfermedad por meningococo del serogrupo C y en varias intervenciones poblacionales masivas, tanto en España como en otros países. De estas experiencias se han obtenido resultados desiguales en cuanto a eficacia

de la seroconversión en relación a la edad y en cuanto a la duración de la misma, especialmente en el grupo de menores de 5 años¹⁻⁴. Por esta razón se considera de especial interés la realización de un estudio prospectivo de eficacia de seroconversión y duración de la inmunidad en nuestra población que aporte elementos necesarios para evaluar la medida adoptada a nivel poblacional (vacunación masiva) y facilite la toma de medidas de control (elaboración de criterios de revacunación) en poblaciones seleccionadas si la situación epidemiológica de la enfermedad lo aconseja.

OBJETIVOS

Los objetivos generales son evaluar la intervención masiva en la Comunidad Autónoma de Madrid y conocer la inmunogenicidad para la población comprendida entre 18 meses y 19 años de edad de la vacunación antimeningocócica frente al serogrupo C.

Los objetivos específicos consisten en conocer:

1. La eficacia de la seroconversión por grupos de edad y para el conjunto de la población estudiada.

Correspondencia:

Dña. Rosa Ramírez Fernández

Jefa de Sección de Enfermedades Transmisibles del Servicio de Epidemiología
C/ O'Donnell, 52.
28071 Madrid

2. La duración de la inmunidad por grupos de edad y para el conjunto de la población estudiada.

ción que asisten y al área sanitaria de localización.

METODOLOGÍA

Diseño del estudio

Se trata de un estudio de seguimiento en una muestra de población residente en la Comunidad de Madrid, de edades comprendidas entre 18 meses y 19 años de edad, que acepten previamente ser vacunados con la vacuna antimeningocócica A+C. Esta vacunación se oferta de manera voluntaria y gratuita a toda la población comprendida en los tramos de edad citados de la Comunidad de Madrid (1.000.047 personas) y se recomienda en base a la situación epidemiológica de la enfermedad meningocócica por serogrupo C.

La muestra se obtendrá previo consentimiento informado de los centros escolares y de los centros de vacunación del Insalud.

Se realizará un muestreo de centros escolares, tanto públicos como privados, en base al tamaño del centro escolar y al área sanitaria de localización, para obtener información de la población escolarizada.

Para captar población previa a la escolarización obligatoria y una vez finalizada la misma se realizará un muestreo de centros de vacunación dependientes del Insalud, en base a las características etarias de la pobla-

Población y tamaño muestral por grupos de edad

La población objeto del estudio es la población residente en la Comunidad de Madrid que no presente ningún criterio de exclusión y que haya aceptado ser vacunada frente a la enfermedad meningocócica por serogrupo C.

Los grupos de edad seleccionados y el tamaño se incluye en la tabla 1. En el cálculo de la muestra se han tenido en consideración las posibles pérdidas en el seguimiento. Debido a que los menores de 5 años son los que mayores dudas presentan sobre seroconversión y duración de la inmunidad, se ha individualizado este grupo, para obtener resultados representativos para los mismos, aunque ello conlleva un aumento importante del tamaño muestral final.

La muestra se estratificará dentro de cada grupo por edad y sexo. El tamaño muestral final será de 1.100 personas (tabla 1).

Criterios de exclusión

Se excluirán todos los niños que presenten patologías o condiciones que afecten la respuesta inmune como: 1) inmunodeficiencias congénitas; 2) infección por el virus de la inmunodeficiencia humana; 3) tratamientos inmunosupresores administrados en los últi-

Tabla 1
Grupos de edad y tamaño muestral

Grupos de Edad	N.º de efectivos	IC al 95%. Prevalencia previa estimada de seroconversión
18 meses a 4 años	500	50%
5 a 9 años	320	60%
10 a 19 años	280	85%

mos 3 meses; 4) tratamiento con esteroides orales o parenterales, de más de una semana de duración, a dosis iguales o mayores a 2 mg/kg/día o 20 mg/día de prednisona durante los últimos tres meses; 5) síndrome nefrótico activo. También serán excluidos del estudio todos los niños que hayan recibido previamente vacuna antimeningocócica A+C, los que no residan en la Comunidad de Madrid y aquellos en los que, por alguna razón, la obtención de la muestra postvacunación no sea posible.

Otras variables

Se recogerán en el estudio otras variables que puedan condicionar la seroconversión o que estén en relación con la infección, pero que no son motivo de exclusión del estudio. Esta información se incluye a efectos de valorar la respuesta inmune.

1.º) Variables relacionadas con la seroconversión (deben ser controladas en el estudio).

- Tamaño de la familia.
- Número de miembros en la familia que superan los 20 años.
- Pertenencia a colectivo del individuo seleccionado.

2.º) Variables generales de identificación

Se incluirán con objeto de poder realizar el seguimiento posterior de las personas participantes y serán aquellas que permitan la identificación personal del caso.

INMUNIZACIÓN

La pauta de vacunación que se seguirá será idéntica a la de la población que no participe en el estudio y consistirá en una dosis única de 0,5 ml de vacuna reconstituida antimeningocócica A+C. Se utilizará in-

distintamente en la vacunación la vacuna Mencevax AC (Laboratorio Smith-Kline and French) y la vacuna antimeningocócica A+C (Laboratorio Pasteur- Merieux MSD).

La vía de administración recomendada es la subcutánea profunda en la región deltoidea.

EVALUACION DE LA RESPUESTA INMUNE

Muestras de sangre

1.º **En niños menores de 5 años:** se obtendrán 4 muestras de sangre. La primera muestra previa a la vacunación y en el mismo acto de la vacunación, con objeto de conocer la seroprevalencia de anticuerpos frente al meningococo. La segunda muestra de suero se obtendrá un mes (28 días \pm 2 días) después de la vacunación, con objeto de valorar la eficacia de seroconversión. La tercera a los 6 meses \pm 7 días, y la cuarta al año \pm 7 días con objeto de valorar la duración de la inmunidad.

2.º **En niños de edad igual o mayor de 5 años se obtendrán:** 3 muestras de sangre. La primera muestra previa a la vacunación. La segunda al mes de la vacunación (28 días \pm 2 días) y la tercera al año \pm 7 días de la vacunación.

La cantidad de sangre necesaria en cada extracción será de 0,2 ml por venopunción de la vena cubital. Las muestras de sangre se enviarán al Centro Nacional de Microbiología donde se procederá a la centrifugación de las mismas para la obtención del suero y separación en alícuotas. Se tomarán las medidas adecuadas para asegurar el transporte de las muestras en condiciones óptimas (transporte diario en nevera).

La extracción de la muestra de sangre se hará de forma indolora mediante la aplicación de crema anestésica tópica EMLA (Laboratorio Astra) cubierta con esparadrappo

oclusivo en el sitio de la inyección, al menos una hora antes de la extracción.

Marcadores de la respuesta inmune

El suero será analizado en el Laboratorio de Referencia de Meningococos del Centro Nacional de Microbiología. En el estudio se utilizará el Ensayo Bactericida, que determina el nivel de anticuerpos bactericidas y el ELISA para determinación de anticuerpos totales antipolisacárido C. La correlación de ambas técnicas es buena en individuos de más de 10 años y disminuye cuanto más joven sean los sujetos. Se considerarán niveles protectores:

- Título mayor o igual a 1:8 en el ensayo bactericida.
- Concentración mayor o igual a 2 ug/ml de anticuerpos totales por enzimoimmunoensayo.

En ambas técnicas se usarán como sueros control, sueros suministrados por el Center for Disease Control (CDC) de Atlanta, en los que ha sido previamente establecida la actividad bactericida y la concentración de anticuerpos totales.

TÉCNICAS DE LABORATORIO

Ensayo de actividad bactericida

La actividad bactericida será medida siguiendo el protocolo definido por el CDC⁵. Se usará suero estéril de conejos de menos de cuatro semanas como fuente de complemento por su baja toxicidad para la cepa C11 utilizada. Antes de la determinación, los sueros son inactivados a 56° C durante 30 minutos. Los sueros, en presencia de complemento son enfrentados en diluciones dobles, desde 1:8 a 1:512, a la cepa C11. Al cabo de 18 horas se cuentan las bacterias (colonias) supervivientes y los títulos son definidos como aquella dilución capaz de

«matar» el 50% o más comparado con el crecimiento de la cepa a tiempo 0.

ELISA para anticuerpos totales

El protocolo utilizado en este caso es igualmente un protocolo estandarizado por el CDC de Atlanta⁶. Los sueros son analizados en 8 diluciones dobles seriadas, empezando en una dilución 1:50, utilizando además diluciones dobles seriadas, en triplicado y empezando en 1:150, del suero estandar que se utiliza como control. La técnica es un clásico enzimoimmunoensayo que utiliza polisacárido C de meningococo como antígeno soporte para que se unan los posibles anticuerpos del suero, que a su vez son posteriormente detectados por monoclonales anti-IgG, IgM e IgA humana, conjugados con peroxidasa y revelados mediante la utilización de un sustrato apropiado (tetrametilbenzidina).

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Se valorarán las diferencias en la respuesta inmunitaria pre y postinmunización utilizando los test de Mc Nemar's y Wilcoxon. Se analizarán las diferencias a la respuesta a anticuerpos específicos anti-polisacárido capsular y anticuerpos bactericidas por el test de Mann-Whitney por grupos de edad. Se realizará análisis multivariante para ver las diferencias entre la proporción de sujetos seropositivos en cada grupo de edad. Se utilizará análisis de la varianza y se realizará un estudio de correlación entre anticuerpos específicos y anticuerpos bactericidas al menos por regresión lineal.

Una vez finalizado el estudio se enviará información del resultado del mismo a todos los participantes.

RESULTADOS INICIALES

El tamaño muestral final obtenido ha sido de 1.003 personas; siendo el 52% varones y

el 48% mujeres. Por grupos de edad la distribución ha sido la siguiente: 359 niños menores de 5 años, 327 entre 5 y 9 años y 317 de 10 a 19 años.

La tabla 2 incluye la distribución de la muestra por edad en las primera y segunda extracciones. La tasa de retención ha sido

del 93,7 %. Siendo el grupo de edad que muestra la tasa más elevada el de 5 años.

En la tabla 3 se muestra la proporción de personas en las que se ha observado un título de anticuerpos bactericidas superior a 1:8. Esta proporción aumenta con la edad.

Tabla 2

Distribución de la muestra por edad en la primera y segunda extracción. Tasa de retención

<i>Edad</i>	<i>Primera extracción</i>	<i>Segunda extracción</i>	<i>Tasa de retención (%)</i>
18 a 4 años	359	327	91.9
5 a 9 años	327	315	96.3
10 a 19 años	317	298	94.0
Global	1003	940	93.7

Tabla 3

Porcentaje de personas con título de anticuerpos bactericidas superior a 1:8 previo a la vacunación (datos provisionales)

<i>Edad</i>	<i>Sueros con título superior a 1:8 (1ª extracción)</i>		
	<i>total muestras estudiadas</i>	<i>positivas</i>	<i>% (IC 95 %)</i>
18 meses	45	0	0
2 años	83	1	1,2
3 años	112	1	0,9
4 años	111	4	3,6
Total grupo	351	6	1,7 (0,6 - 3,8)
5 años	72	2	2,8
6 años	58	1	1,7
7 años	64	1	1,5
8 años	72	3	4,2
9 años	61	0	0
Total grupo	327	7	2,1 (0,8 - 4,3)
10 años	26	1	3,8
11 años	30	2	6,7
12 años	32	5	15,6
13 años	33	0	0
14 años	43	1	2,3
15 años	29	2	6,9
16 años	33	6	18,2
17 años	30	2	6,7
18 años	34	6	17,6
19 años	27	5	18,5
Total grupo	317	30	9,4 (6,4 - 13,2)
Global	995	43	7,2

BIBLIOGRAFÍA

1. Mitchell L., Ochnio J., Glover C., Lee A., Ho M., and Bell A. Analysis of Meningococcal Serogroup C-specific Antibody Levels in British Columbian Children and Adolescents. *J Infect Dis* 1996. (173):1009-13.
2. Nieminen T., Kayhty H. and Kantelf A.. Circulating Antibody Secreting Cells and Humoral Antibody Response after Parenteral Immunization with a Meningococcal Polysaccharide Vaccine. *Scand J Infect Dis* 1996. (28):53-58.
3. King W. et al. Total and functional Antibody response TO a quadrivalent meningococcal polysaccharide vaccine among children. *Pediatrics* 1996.128:196-202.
4. Lieberman J. et al. Safety and Immunogenicity of a Serogroups A/C *Neisseria meningitidis* Oligosaccharide-Protein Conjugate Vaccine in young Children. *JAMA* 1996. 275:1499-1503.
5. Maslanka SE, Gheesling LL, Libutti D et al. Standardization and multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bacterial assays. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997; 4.
6. Gheesling LL, Carlone GM, Pais L et al. Multicenter comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup C anti-capsular poly saccharide antibody levels measured by a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Microbiol* 1994. 32 (6):1475-1482.
7. King WJ, McDonald EN, Wells G, Juang J, Alen U et al. Total and funtional antibody response to a quadrivalent meningococcal polysaccharide vaccine among children. *J Pediat* 1996; 128 (2): 196-202.