

Revista de Saúde Pública

JOURNAL OF PUBLIC HEALTH

Atualização

Current Comments

Comportamento imunológico das vacinas anti-meningocócicas

Immunological behavior of the meningococcal vaccines

Henry I. Z. Requejo

Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, SP - Brasil

REQUEJO, Henry I. Z., Comportamento imunológico das vacinas anti-meningocócicas
Rev. Saúde Pública, 31 (4): 402-16, 1997.

Atualização

Current Comments

Comportamento imunológico das vacinas anti-meningocócicas

Immunological behavior of the meningococcal vaccines

Henry I. Z. Requejo

Seção de Imunologia do Instituto Adolfo Lutz. São Paulo, SP - Brasil

Resumo

A doença meningocócica continua sendo um grande problema de saúde pública em todos os continentes, e as vacinas anti-meningocócicas têm sido indicadas na prevenção e controle de epidemias. As vacinas polissacarídicas A e C são relativamente eficazes, com comportamentos imunológicos distintos frente às faixas etárias; no entanto, para o sorogrupo B, embora existam numerosos estudos internacionais até agora já desenvolvidos, ainda não se tem uma vacina altamente segura e eficaz de ampla aceitação. O polissacarídeo capsular do meningococo B não é imunogênico devido ao seu mimetismo com componentes celulares do hospedeiro. Tentativas de se introduzir carreadores protéicos vêm sendo feitas para se obter uma vacina que seja imunogênica em todas as faixas etárias e de preferência protetora contra todos os meningococos. Foi feita revisão da literatura com o objetivo de estudar o comportamento imunológico de todas as vacinas, até então desenvolvidas, e mostrar os esforços que estão sendo empreendidos no sentido de se buscar um produto seguro e eficaz para o controle da doença meningocócica.

Vacinas bacterianas. Meningite meningocócica, imunologia. Imunidade.

Abstract

Meningococcal disease continues to be a great health problem on all continents and the meningococcal vaccines have been proposed for their prevention and epidemic control. The polysaccharide A and C vaccines are relatively efficacious with distinct immunological behavior with regard to the different age groups, however, up to the present no highly efficacious vaccine for meningococcal B disease exists. The meningococcal B capsular polysaccharide is not immunogenic due to the structural mimicry of mammalian tissues and efforts to produce carrier proteins have been proposed in order to obtain an immunogenic vaccine for all age groups that would if possible, protect against all the meningococci. This review of the literature presents the study of the development of the immunological behavior of all the meningococcal vaccines undergoing development and reports on the efforts to obtain a safe and efficacious product for the control of meningococcal disease.

Bacterial vaccines. Meningitis, meningococcal, immunology. Immunity.

INTRODUÇÃO

As vacinas anti-meningocócicas são indicadas na prevenção de epidemias e conferem imunidade grupo-específica contra a doença meningocócica, diminuindo as chances de ocorrência da infecção⁷⁸. Diversas vacinas têm sido produzidas contra os meningococos A, B e C, os mais comuns nas endemias e epidemias e mesmo contra os sorogrupos Y e W135 que podem ocasionar surtos esporádicos em academias militares e educandários. Uma vacina de polisacáride 29E foi experimentada por Griffiss e col.⁴² com resultados imunogênicos satisfatórios em adultos. As vacinas monovalentes A e C, a bivalente AC e a tetravalente ACYW135 vêm sendo empregadas com frequência nos Estados Unidos, Europa e América do Sul. Essas vacinas em geral contêm 50 µg de polisacáride por dose e são administradas por via subcutânea^{16, 36}. Reações locais podem ocorrer devido à presença de altos níveis de anticorpos pré-existentes ou a presença da endotoxina lipopolissacáridica como contaminante do produto vacínico³⁶. No entanto, os efeitos tóxicos ou alérgicos das vacinas não são frequentes³⁸.

A imunização contra a doença meningocócica tem sido recomendada para indivíduos de risco: pessoas com deficiência dos componentes terminais do sistema complemento ou asplenia anátomo/funcional, trabalhadores ou viajantes que necessitem chegar a áreas onde a doença é epidêmica e ainda, recrutas militares¹⁷⁻²⁰. A preocupação com este último grupo atribui-se às circunstâncias que envolvem o período de treinamento militar quando se formam grandes agrupamentos, o que pode aumentar a taxa de portadores e o desenvolvimento da doença invasiva^{96, 99}. Quando 40% dos recrutas militares na Finlândia foram vacinados com polisacáride meningocócico, verificou-se que nenhum caso de meningite ocorrera dentre esses recrutas, embora a doença se manifestasse sobre o restante da população. Por outro lado, quando apenas 20% dos recrutas foram vacinados nos Estados Unidos, a proteção se verificou apenas sobre essa população de vacinados⁶. O efeito da imunização com o polisacáride meningocócico C em 1969-70 mostrou que a vacinação fornece 50% de proteção contra a aquisição de um novo estado de portador dentro da população^{35, 69}.

Embora desempenhe papel importante no controle de endemias e de casos esporádicos de meningites A e C, a vacinação para a massa populacional não tem sido recomendada nos Estados Unidos por três razões: a) a doença meningocócica tem sido pouco frequente, 3.000 casos/ano; b) não existe ainda

uma vacina anti-meningocócica B comprovadamente eficaz e esse sorogrupo representa 50% dos casos da doença; c) a vacina não é eficaz contra a doença causada pelo meningococo C, em crianças com menos de 2 anos de idade, faixa etária essa onde esse sorogrupo atinge 28% dos casos^{19, 20}. Entretanto, considerando-se que nos Estados Unidos a taxa de doença meningocócica entre pessoas de 18 a 22 anos, preventivamente vacinadas, é de 0,5/100.000/ano, que a eficácia da vacina C é de 85% para uma cobertura de 80%, com efeitos colaterais raros ou infreqüentes, e que a taxa de doença meningocócica entre estudantes é de 1,3/100.000, Jackson e col.⁴⁴ concluíram que é importante a vacinação de estudantes. Segundo esses autores, em primeiro lugar, o custo da vacina C é estimado em US\$15.00 por dose, e os gastos com a administração da vacina têm um custo adicional de US\$15.00 por dose, perfazendo US\$30.00 por pessoa; em segundo, o tratamento da doença meningocócica custa em torno de US\$8,145.00 por doente, incluindo 7 dias de hospitalização (estimativa de US\$602.00/dia, em 1988). Assim, como o custo anual da vacinação dos estudantes é estimado em US\$45 milhões, um programa de imunização de escolares é uma importante alternativa para uma economia dos recursos da saúde pública. A informação acerca da duração protetora fornecida pelas vacinas polissacarídicas é de importância para a escolha de esquemas de vacinação nos países com alta incidência da doença e com recursos financeiros limitados.

Com o objetivo de estudar o comportamento imunológico de todas as vacinas até então desenvolvidas, e mostrar os esforços que estão sendo feitos para se buscar um produto seguro e eficaz para o controle da doença meningocócica, foi elaborada uma revisão da literatura, período 1970-1996.

VACINA A

O meningococo A apresenta uma cápsula polissacarídica constituída basicamente de manosamina-fosfato, estrutura essa semelhante às do meningococo X e de outras bactérias saprofiticas de reatividade cruzada como *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus*⁷⁷. A vacina contra o meningococo A, avaliada em 10.820 pessoas no Sudão indicou que esse polisacáride foi eficaz em condições epidêmicas sem se observar nenhum efeito colateral²⁶. No Egito, a vacina anti-A avaliada em 62.000 estudantes de 6 a 15 anos de idade, foi altamente efetiva, com eficácia de 90%, sem efeitos colaterais⁹¹. Ainda no Egito⁹², uma segunda vacinação de estudantes de 6 a 15 anos também contra o meningococo A confirmou a ausência

de efeitos colaterais e a incidência de meningite cerebrospinal por esse sorogrupo diminuiu em 89%. Durante a epidemia de doença meningocócica pelo sorogrupo A na Finlândia, em 1974-75, foram vacinadas 49.295 crianças, e dentre essas, não houve ocorrência da doença por esse agente, porém 10 dessas crianças foram atingidas pela doença causada pelos sorogrupos B, C e Y⁶⁹. Na epidemia de meningococo A registrada em 1985-86, em Auckland, Nova Zelândia, as crianças de 2 meses a 13 anos de idade foram as mais susceptíveis, e um programa de emergência de vacinação da população infantil se fez necessário, atendendo a cerca de 90% das crianças nessa faixa etária. Aquelas de 0 a 23 meses de idade receberam duas doses da vacina, no intervalo de um mês, enquanto que as de 24 meses a 13 anos receberam uma dose única da vacina monovalente. Uma avaliação da imunogenicidade após 2 anos e meio revelou uma eficácia de 100%^{52, 53}. Na Índia, Rao e col.⁷⁵ fizeram uma comparação da resposta de anticorpos em pacientes, contactantes e vacinados, e encontraram por imunoensaio enzimático, uma resposta sorológica de 80% ao primeiro mês, 78% ao terceiro mês e 66% ao sexto mês após a vacinação, comparadas a 16% de positividade nos pacientes em fase aguda de infecção meningocócica, 80% em convalescentes e 38,3% em contactantes.

Estudos desenvolvidos por Kayhty e col.⁴⁸ com a vacina anti-meningocócica do sorogrupo A, revelaram que em crianças com idade abaixo de 12 meses, uma resposta anticórpica estatisticamente significativa foi mantida por um ano; em crianças com 12-17 meses de idade, por dois anos; na faixa etária de 18-23 meses houve um rápido declínio dos níveis de anticorpos, sendo mantidos por um pouco mais de um ano. Com o aumento da idade, decrescem lentamente os níveis anticórpicos induzidos pela vacinação, nas faixas etárias estudadas. Ceasay e col.¹⁴ demonstraram que a imunidade à doença meningocócica é perdida rapidamente em cerca de 2 anos após a vacinação com o polissacáride A, com declínio substancial dos títulos de anticorpos que retornam aos valores iniciais no fim de 5 anos após a vacinação. A fim de se obter uma vacina A mais imunogênica, Wang e col.⁹⁴ vêm desenvolvendo um produto contendo o polissacáride A conjugado com a proteína de membrana externa de sorotipo 4, prevalente nas epidemias da África e Ásia, e os resultados preliminares parecem satisfatórios.

Reingold e col.⁷⁶ estudaram o comportamento da vacina polissacarídica A em Ouagadougou, capital de Burkina Fasso. Em 1981, a vacina foi aplicada sobre 103.000 crianças de 3 meses a 16 anos de ida-

de. A eficácia vacinal medida após 1, 2 e 3 anos mostrou um declínio gradativo, de 89%, em 1982, para 69%, em 1983, e 62%, em 1984. As crianças que em 1981 tinham 1, 2 e 3 anos de idade apresentaram, em 1984, eficácias bastante baixas, de 24%, 21% e 24%, respectivamente. As crianças com 4 a 7 anos de idade, à época da vacinação, mostraram, em 1984, cerca de 92% de eficácia e, para aquelas de 8 a 16 anos de idade, encontrou-se três anos após, uma eficácia de 75%. A eficácia permaneceu relativamente alta nas crianças de 4 a 16 anos mas caiu progressivamente em relação àquelas com menos de 4 anos de idade, mostrando que a proteção da vacina é fortemente dependente da idade, como Kayhty e col.⁴⁸ demonstraram anteriormente na Finlândia, não oferecendo proteção duradoura nas crianças menores de 4 anos.

VACINA C

O meningococo C apresenta a cápsula polissacarídica constituída de ácido -(2 8)-N-acetilneuramínico denominado também ácido siálico⁷⁷. A idade é um fator determinante na resposta imune ao polissacáride C. Em crianças com mais de 3 meses, o pico da resposta imune medida por radioimunoensaio chega a 1/80 daquele obtido em adultos e, por volta dos 2 anos de idade, as crianças alcançam uma média de anticorpos próxima a 1/10 daquela observada em adultos. Nas crianças mais velhas, a resposta anticórpica é mais prolongada, mas declina gradativamente após dois anos de observação, a menos de 25% do pico atingido inicialmente³⁷. Lepow e col.⁵⁴ verificaram que uma dose de reforço, aplicada 3 anos após a imunização primária, restaura em crianças de 4 a 10 anos a concentração de anti-C, a níveis similares àqueles observados na primeira dose. Outros autores³⁶ encontraram uma depressão da resposta anticórpica comparada à imunização primária, fenômeno esse que estaria relacionado com a dose-dependência.

Segundo Peltola⁷⁰, a vacina C fornece proteção de 90% contra a doença meningocócica C, em adultos, e de 65%, em crianças de 6 a 23 meses. Entretanto, há uma controvérsia quanto a imunização de crianças, visto que outros autores têm mostrado que essa vacina não induz a formação de anticorpos em crianças com idade inferior a 2 anos. Para as crianças com idade acima de 18 meses a resposta imune é inferior àquela verificada em adultos, decrescendo rapidamente a 70%-80% os níveis de anticorpos logo após um ano da vacinação. O tempo de duração dos anticorpos séricos depende em grande parte da ida-

de na qual a vacinação ocorreu e da imediata resposta à vacina^{38, 84}. Na proteção dos lactentes, a vacina anti-C tem se mostrado muito menos eficaz do que a vacina anti-A, visto que no primeiro ano após a imunização os níveis de anticorpos anti-C decrescem mais rapidamente do que os de anticorpos anti-A. Uma provável imunização natural por antígenos bacterianos de reatividade cruzada com o meningococo A seria um fator responsável pela manutenção dos níveis de anticorpos anti-A e, conseqüentemente, pela maior eficácia da vacina anti-A. Lepow e col.⁵⁴ encontraram por radioimunoensaio uma queda de anticorpos anti-C a níveis não protetores dentro de 4 anos pós-vacinação. Segundo esses autores⁵⁴, a vacina polissacarídica C não protege os menores de 2 anos pelo fato de que a resposta anticórpica ao polissacáride é célula T-independente e conseqüentemente não induz à memória imunológica nessas crianças. A avaliação do efeito protetor da vacina C (dose única de 50 µg) em 67.000 crianças, quando da imunização ocorrida em São Paulo durante a epidemia de 1971-74, mostrou que há um menor risco da incidência da doença naquelas de 24 a 36 meses, e confirmou a fraca imunogenicidade nas menores de 2 anos. A vacina foi 75% efetiva na prevenção da doença na faixa etária de 24 a 36 meses, mas nenhuma proteção aparente verificou-se naquelas de 6 a 23 meses⁸⁴⁻⁸⁶ e os resultados alcançados foram similares àqueles antes verificados nas crianças norte-americanas³⁷. Artenstein⁶ verificou que adultos submetidos à vacina C apresentavam, em 14 meses, queda significativa nos títulos de anticorpos medidos por hemaglutinação. Nos Estados Unidos^{15, 36}, a vacina anti-C tem sido empregada rotineiramente em recrutas militares, desde 1971, sem mostrar efeitos adversos em mais de 500.000 jovens, com uma proteção efetiva de 86 a 90%.

VACINA DUPLA AC

As vacinas anti-A e anti-C podem ser aplicadas simultaneamente em diferentes locais do corpo ou em forma bivalente AC sem interferência com a resposta imune a esses antígenos, individualmente. Essas vacinas são imunogênicas quando administradas juntas ou separadamente^{11, 34}. As vacinas anti-A e anti-C são bastante imunogênicas em adultos e uma rápida resposta imune verifica-se após a imunização, com níveis mais altos de anticorpos em duas a três semanas, decaindo à metade após 3 anos, aproximadamente. No Brasil, as vacinas A e C, utilizadas na epidemia de 1974-75, não levaram a nenhum caso fatal ou seqüela³⁹. Durante os anos epidêmicos, 1977

a 1980 na província de Bauchi, Nigéria, mais de 2.500.000 crianças de 3 a 15 anos de idade foram vacinadas com AC, e nenhum caso de reação adversa foi registrado⁶². Na Arábia Saudita, durante o surto epidêmico de março de 1992 em Mecca, as vacinas A e C foram aplicadas sobre 1.168 crianças e jovens de 2 a 18 anos e, como sintomas da vacinação, foram constatados ligeira dor local (21,9%), eritema (12,2%) e tumefação local (7,2%), sendo que somente 1,7% das crianças apresentaram febre e 3,7% manifestaram irritabilidade. Essas reações adversas desapareceram em 24-48 horas¹. Na Itália⁸, a vacina dupla Mengovax AC, contendo 50 µg de polissacáride por dose, quando introduzida na imunização de recrutas militares, resultou numa eficácia protetora de 91,2%, reduzindo a incidência de meningite meningocócica nos quartéis, de 11,3/100.000, no período 1985-86, para 0,2/100.000, em 1988-89. No Chile⁶⁴, na imunização de 100 crianças com uma vacina dupla AC obteve-se por hemaglutinação passiva, uma soroconversão de 84% para o antígeno A e de 90% para o antígeno C. Em Nairóbi (Quênia)⁷², a vacinação de 1989 (cerca de 400.000 doses) produziu uma eficácia de 87% (IC_{95%} = 67 a 95%). Estudo retrospectivo conduzido por Yergeau e col.⁹⁵, no Canadá, após um programa de vacinação em massa (cerca de 1.200.000 vacinados), mostrou que a reação alérgica foi a principal reação adversa causada pela vacina AC, com 9,2 casos por 100.000 doses; reações anafiláticas e neurológicas foram de 0,1 e 0,5 por 100.000 doses respectivamente, e não foram registrados casos de seqüelas, encefalopatias, meningites ou encefalites pós-vacinais. Em Gâmbia, a fim de se medir a transferência placentária de anticorpos, O'Dempsey e col.⁶⁸ aplicaram a vacina AC em gestantes, no último trimestre de gestação. Todas as mulheres apresentaram boa resposta anticórpica no momento do parto, com 23,2 µg/ml de anticorpos para o sorogrupo A e 14,3 µg/ml para o C. Entretanto, somente uma pequena proporção de anticorpos cruzou a placenta. A razão entre anticorpos maternos e de cordão umbilical foi de 30% e 44% para os meningococos A e C, respectivamente. Le Moli e col.⁵¹ empregaram a análise de focalização isoelétrica para a detecção de anticorpos séricos contra os polissacárides A e C, em amostras coletadas antes e após a vacinação e verificaram que 49% e 28% das amostras da pré-vacinação apresentavam anticorpos de aquisição natural contra os polissacárides A e C, respectivamente, enquanto que 18 dias após a vacinação, 84% e 91%, respectivamente, apresentaram um padrão espectrotípico de anticorpos contra A e C. Os estudos de Le Moli e col.⁵¹ revelam que tanto a

indução natural de anticorpos via células T-dependentes como a imunização com vacinas, via células T-independentes, pode induzir a expressão dos mesmos repertórios de anticorpos contra meningococos A e C, o que pode contribuir para o entendimento da resposta imune contra os antígenos polissacarídicos.

VACINA TETRAVALENTE ACYW135

Tal como o meningococo C, os meningococos Y e W135 apresentam cápsula polissacarídica constituída de ácido siálico, porém ligados a hexoses. No meningococo Y, em cada monômero o ácido siálico está ligado à glicose, e no W135, ligado à galactose⁷⁷. Farquhar e col.²⁸ prepararam uma vacina trivalente contendo os polissacarídeos A, C e Y, e verificaram que uma alta percentagem, de 87%, dentre os indivíduos vacinados desenvolveram níveis significativos de anticorpos bactericidas contra esses componentes vacínicos, e os resultados sugeriram uma resposta imune independente a cada polissacarídeo. A primeira vacina tetravalente contendo os polissacarídeos A, C, Y e W135, conjugada com os antígenos protéicos de membrana 2b e 15, foi experimentada por Froholm e col.³³ em 47 voluntários, e os resultados preliminares mostraram que essa vacina induzia a níveis satisfatórios de IgG, porém a níveis muito baixos de IgM e IgA. Em 1982, Andre e col.⁵ estudaram a resposta imunogênica da vacina tetravalente em crianças de 6 a 24 meses de idade, verificando que as crianças de 6 a 11 meses apresentaram um decréscimo da produção de anticorpos contra os antígenos A e C, ao terceiro mês após a vacinação, enquanto que foi persistente a imunogenicidade contra os antígenos W135 e Y. Cadoz e col.¹³ avaliaram a segurança e a imunogenicidade da vacina tetravalente em 26 crianças de 3 a 13 anos de idade. A tolerância à vacina foi muito boa, induzindo a elevados títulos de anticorpos bactericidas contra os quatro polissacarídeos. Em 1982, a vacina tetravalente ACYW135 foi introduzida nos Estados Unidos como rotina na imunização dos recrutas militares, sendo aplicada nos primeiros três dias do serviço militar. Essa vacina⁴¹ é usada também na população civil para o controle de surtos causados pelos meningococos A, C, Y ou W135. Na Rússia, a vacina tetravalente é usada desde 1985 na imunização de indivíduos com deficiência de complemento, e os estudos de Platonov e col.⁷³ demonstraram aumento significativo da concentração de IgM e IgG para cada um dos antígenos meningocócicos. Ambrosch e col.³ mostraram que a vacina ACYW135 apresenta soroconversão de 92,5% para os meningococos A e C, 97,5% para o Y e 95% para o W135, e o efeito colateral, dor de cabeça veri-

ficado, foi atribuído à pluralidade de componentes químicos da vacina. Zangwill e col.⁹⁶ avaliaram a duração da resposta anticórpica da vacina tetravalente entre os militares norte-americanos. Em relação ao polissacarídeo vacínico A, o nível médio de anticorpos séricos na pré-vacinação foi de 1,17 µg/ml e o máximo foi alcançado um mês após a vacinação, com 13,38 µg/ml, ou seja, 11 vezes maior em relação àquele verificado na pré-vacinação. Após 2 anos da vacinação o nível médio de anticorpos declinou a 65% e, ao 10º ano, a 27% daquele registrado no primeiro mês. Para o polissacarídeo C, na pré-vacinação, o nível médio de anticorpos séricos foi de 0,66 µg/ml e o máximo alcançado em um mês foi de 25,72 µg/ml, 39 vezes maior; dois anos após, a taxa declinou 76% e, ao 10º ano, o nível alcançado foi similar àquele verificado para o polissacarídeo A. Peltola e col.⁶⁹ consideram que uma taxa de 2 µg/ml de anticorpos séricos é protetora contra o desenvolvimento da doença meningocócica invasiva. Experimentos prévios desenvolvidos por Griffiss e col.⁴¹ mostraram taxas satisfatórias de anticorpos bactericidas contra o meningococo W135 (85%) e contra o meningococo Y (100%). No Canadá, King e col.⁴⁹, em estudo prospectivo sobre 2.240 indivíduos de 6 meses a 19,9 anos, vacinados com a ACYW135, conseguiram um mês após à vacinação uma média geométrica de concentração de antígeno polissacarídico C (GMC) de 7,56 µg/ml, 113 vezes maior do que a GMC tomada na pré-vacinação ($\leq 0,26$ µg/ml), sendo que 68,1% das crianças de 6 a 11 meses e mais de 85% dentro de todos os outros grupos etários tiveram GMC $\geq 2,0$ µg/ml. E, após um ano, a GMC foi ainda significativamente maior do que a de antes da vacinação para todas as faixas etárias, apesar de declinar a 3,03 µg/ml.

Com vistas a uma melhor resposta imunogênica, Rosenqvist e col.^{80,81} vêm desenvolvendo uma nova vacina ACYW135 contendo proteínas de membrana externa dos sorotipos 2b:P1.2 e 15:P1.16, e resultados preliminares mostram-se satisfatórios na produção de anticorpos bactericidas contra os quatro sorogrupos, induzindo em níveis significativos de anticorpos da classe IgG.

VACINA B

Existem alguns antígenos que interagem com o sistema imune do hospedeiro mas, ao invés de produzir uma resposta imune positiva, causam um estado de ausência de resposta. São então chamados de *tolerógenos*. Esses antígenos podem agir de diversas maneiras, por exemplo, bloqueando células do sistema imune no desempenho de suas funções normais, ou

causando uma supressão da resposta imune que deveria ocorrer naturalmente. Um exemplo é a tolerância produzida por doses elevadas de lipopolissacarídeos. Como resultado final, o sistema imune não responde à exposição a esse antígeno. A falta de reação para uma molécula potencialmente antigênica é conhecida como tolerância imunológica. Os linfócitos B podem se tornar tolerantes por uma variedade de antígenos T-independentes. De um modo geral, esses antígenos são lentamente metabolizados *in vivo* e, portanto, tendem a provocar uma tolerância de permanência relativamente prolongada. A resposta dos linfócitos B a antígenos T-independentes está relacionada com a dose do antígeno injetado⁷⁹.

O polissacáride meningocócico do sorogrupo B é pouco imunogênico, e sua fraca imunogenicidade é atribuída a uma tolerância devido à sua semelhança com oligômeros $-(2-8)$ do ácido siálico ou ácido $-(2-8)$ N-acetil-neuramínico [$-(2-8)$ NeuNAc]⁷⁷, presentes nos glicopeptídios humanos e no tecido cerebral de ratos. A imunogenicidade do polissacáride de meningococo B em animais de laboratório está associada com o grau de ligação do polímero às proteínas de membrana externa, e as tentativas para a produção da vacina anti-B concentram-se na utilização dessas proteínas da membrana externa da célula meningocócica³². Liu e col.⁵⁷ admitiram que essa falta de indução à formação de anticorpos em humanos se deve ao fato de que a ligação $-(2-8)$ do homopolímero de ácido siálico é despolimerizada rapidamente pela neuraminidase nos tecidos. O ácido siálico apresenta uma estrutura em hélice e um epítipo conformacional que está associado às suas ligações $-(2-8)$. Cada volta da molécula helicoidal tem mais de 8 resíduos [$-(2-8)$ NeuNAc] e se acredita que um resíduo equivalente a um decassacáride de [$-(2-8)$ NeuNAc] dentro da hélice seja necessário para a ligação do polissacáride B a anticorpos específicos. A fraca imunogenicidade do polissacáride B origina-se a partir do reconhecimento da estrutura conformacional que é semelhante àquelas das moléculas de adesão da células nervosas¹². Apesar do mimetismo estrutural com tecidos de mamíferos, podem ser produzidos anticorpos específicos para o homopolímero de ácido siálico com ligações $-(2-8)$, relativos ao epítipo conformacional. Esse epítipo é apenas uma pequena contribuição frente a um grande número de epítipos avaliáveis em estudos de estrutura conformacional⁴⁵.

Diversas vacinas contendo proteína de membrana externa vêm sendo testadas quanto à segurança, à eficácia e à imunogenicidade e as proteínas das classes 1 e 2 associadas ao polissacáride podem ser im-

portantes na produção da vacina anti-B, exercendo efeito protetor sinérgico e melhorando a sua eficácia. Um aumento de anticorpos contra proteínas de membrana, que embora isoladamente não tenham poder bactericida, pode agir sinérgicamente com os anticorpos anti-polissacarídicos pré-existentes para elevar a atividade bactericida contra o meningococo B^{29, 97, 98}. A princípio, a ligação entre polissacáride e proteína de membrana nos meningococos é de natureza hidrofóbica e mediada por uma porção lipídica terminal ao polissacáride⁴⁰. A ligação entre polissacáride e proteínas resulta conseqüentemente na solubilização e no aumento de sua imunogenicidade.

As proteínas determinantes dos sorotipos meningocócicos 2a e 2b, de peso molecular 46.000, têm sido estudadas com a finalidade de se melhorar a imunogenicidade das vacinas anti-B e anti-C, para uso nos Estados Unidos e Europa, e os resultados preliminares obtidos em modelo animal têm mostrado que a proteína 2b induz à formação de anticorpos fortemente bactericidas para ambos os sorotipos 2a e 2b^{31, 93}. A imunização de 2.200 crianças na Cidade do Cabo (África do Sul), em 1983, com uma vacina B contendo a proteína sorotipo 2, mostrou imunogenicidade satisfatória nas crianças com menos de um ano, bem como naquelas de 4 a 5 anos de idade³⁰.

Diferentes métodos têm sido empregados no preparo da vacina B contendo proteínas de membrana, resultando em produtos contendo quantidades variáveis de 2 a 15% de lipopolissacáride (LPS), porém, devido ao caráter toxigênico do LPS, tem-se procurado obter um composto vacínico substancialmente livre ou com menos de 1% de LPS⁹⁷. O emprego de LPS detoxificado ou oligossacárides derivados de LPS combinados com proteínas de membrana externa ou incorporados a lipossomos tem sido objeto de estudo de diversos grupos na Europa e nas Américas. A base das vacinas anti-meningocócicas B, recentemente estudadas em Cuba e na Noruega, consiste de extrato obtido com desoxicolato a partir de vesículas de membrana externa. A vacina norueguesa contém material de vesículas de meningococo B adsorvido ao hidróxido de alumínio, enquanto que a vacina cubana contém material de vesículas de meningococo B combinado com o polissacáride capsular do meningococo C, e é enriquecida com proteína de alto peso molecular⁹⁸. A vacina cubana VAMENGOC-BC contém 50 µg de polissacáride C e 50 µg de proteínas de membrana externa do meningococo B, é enriquecida com proteínas de alto peso molecular (65-95kDa), integradas em proteolipossomos estáveis com 1% de LPS e adsorvida ao hidróxido de alumínio⁸³.

Lifely e col.⁵⁶ desenvolveram uma vacina composta de polissacáride B conjugado de modo não covalente a uma proteína de membrana externa do subtipo 6, a qual foi escolhida devido à sua estabilidade química e à sua imunogenicidade em camundongos. A vacina, quando experimentada em humanos adultos, mostrou o desenvolvimento de resposta imune tanto para o polissacáride B como para o componente protéico, e a resposta imunogênica, persistente por mais de um ano, foi predominantemente do isotipo IgM. Essa vacina continha hidróxido de alumínio e os íons de alumínio poderiam ser responsáveis pela estabilização da estrutura tri-dimensional do conjugado polissacáride-proteína. Há uma crescente evidência de que o mecanismo de proteção não deve ser o mesmo para os diferentes sorogrupos meningocócicos, com fagocitose via complemento relativamente mais importante na defesa contra o meningococo do sorogrupo B do que contra os dos sorogrupos A, C, Y e W135⁵⁶. Segundo Ross e col.⁸², as células de meningococo B são mais resistentes à atividade bactericida do que as de meningococos A e C, mas, por outro lado, após opsonização, tornam-se altamente susceptíveis à ação dos leucócitos polimorfonucleares. Raff e col.⁷⁴ produziram um anticorpo monoclonal contra o polissacáride de meningococo B capaz de apresentar atividade de opsonização, mas não bactericida, e ser altamente protetor em modelo animal. Halstensen e col.⁴³ verificaram que a atividade opsonizadora em soros de pacientes tomados à admissão hospitalar, quando medida pelo método de quimioluminescência, é inversamente proporcional à severidade da doença meningocócica. O exame da atividade de opsonização do soro da pré- e da pós-imunização pode, portanto, fornecer informações importantes acerca da proteção após imunização com diferentes vacinas meningocócicas. Na Noruega, Lehmann e col.⁵⁰ experimentaram uma vacina composta de proteínas de vesículas de membrana extraídas da cepa B:15:P1.16, conjugada ao polissacáride C, em 113 voluntários saudáveis. Na prova de atividade opsonizadora, verificou-se, que 6 semanas após à primeira imunização, 74% dos voluntários responderam à vacina e, 6 semanas após à segunda dose, a atividade opsonizadora foi obtida para 86% dos voluntários.

Em Iquique (Chile), a vacina meningocócica, preparada a partir da cepa B:15:P1.3:L3,7, contendo agregados protéicos da ordem de 25kDa (dose de 100 µg de proteína por injeção), quando estudada numa população de 40.811 pessoas de 1 a 21 anos, apresentou uma baixa eficácia, de apenas 51%. A pesquisa de anticorpos por ensaio imunoenzimático,

caracterizou-se por uma resposta de IgG de efeito *booster* alcançada após a segunda dose, seguida por uma queda substancial dos níveis de anticorpos ao sexto mês. Não houve proteção evidente nas crianças de 1 a 4 anos, mas considerando-se a população estudada de 5 a 21 anos, a eficácia vacinal foi de 70%^{10, 100}. Estudo retrospectivo conduzido em 171.800 jovens de 13 a 21 anos de idade, na Noruega⁹, mostrou que a vacina obtida a partir da cepa B:15:P1.16 resultou numa baixa eficácia, de apenas 57,2% quando medida em títulos de anticorpos bactericidas, valor este que foi considerado insuficiente pelos autores do citado estudo, para justificar um programa de vacinação pública.

A vacina cubana VA-MENGOC-BC, preparada a partir da cepa B:4:P1.15, predominante em Cuba e em São Paulo (~70% dos casos), resultou numa proteção eficaz de 83% quando experimentada em Cuba, em 106.256 estudantes de 10 a 16 anos de idade⁸³. Uribe e col.⁸⁸ avaliaram em Antioquia, Colômbia, a resposta imune humoral às proteínas componentes da vacina VA-MENGOC-BC, em 407 adultos e em 213 crianças de 1 a 5 anos de idade. As amostras de soros de pré e pós-vacinados foram submetidas às provas de imunoadsorção enzimática (ELISA) e de capacidade lítica mediante a prova de anticorpos bactericidas frente a cepa cubana B:4:P1.15. A soroconversão medida por ELISA foi de 80% (IC_{95%} = 73 a 86%) em adultos e de 90% (IC_{95%} = 83 a 100%) nas crianças. Na prova de anticorpos bactericidas, a soroconversão foi de 85% (IC_{95%} = 78 a 92%), sendo 85% nos adultos (IC_{95%} = 76 a 95%) e 84% nas crianças (IC_{95%} = 72 a 96%). Para as crianças de um ano, a idade mais afetada nas epidemias, os citados autores obtiveram uma soroconversão de 100% tanto em ELISA como na prova antibactericida, valores estes bastante controversos frente à literatura pertinente. Os níveis de resposta anticórpica refletiram uma boa imunogenicidade e protetogenicidade do preparado vacínico empregado, capazes de incrementar a resposta imune numa proporção maior da população vacinada. Com relação à avaliação da resposta imune ao polissacáride C contido nessa vacina em 142 crianças de 1 a 5 anos, Uribe e col.⁸⁹ verificaram que a resposta foi estatisticamente significativa pelas duas técnicas empregadas, sendo que a soroconversão medida por anticorpos bactericidas foi de 88% (IC_{95%} = 80 a 95%) e por ELISA, de 93% (IC_{95%} = 89 a 97%). Entretanto, os resultados obtidos por Uribe e col.⁸⁹, não foram observados em outras localidades.

Quando aplicada em São Paulo⁵⁷ no período 1989-1990, numa população de 2,4 milhões de crianças de

3 meses a 6 anos de idade, a vacina VA-MENGOC-BC resultou num índice de eficácia de 74% (IC_{95%} = 16 a 92%) em crianças com mais de 4 anos de idade, porém a proteção não foi satisfatória para crianças abaixo dos 4 anos de idade, nas quais registrou-se uma eficácia não significativa de 37%^{59, 60, 63}. Somente em 40% (IC_{95%} = 22 a 52%) das crianças de 3 meses a 6 anos encontrou-se um aumento mínimo de quatro vezes nos títulos de anticorpos bactericidas contra a cepa B:4:P1.15. Estudo de caso-controle realizado no Rio de Janeiro (Capital) revelou uma efetividade da vacina cubana de 74% (IC_{95%} = 41 a 89%). A melhor resposta verificou-se para a faixa etária de maiores de 3 anos, 71% (IC_{95%} = 34 a 87%) e a mais baixa, de 47% (IC_{95%} = -100% a 89%) para a faixa de 6 a 23 meses⁶⁷. Em Santa Catarina, encontrou-se uma eficácia de 68% (IC_{95%} = 51 a 79%) para o grupo etário de menores de 4 anos e de 71% (IC_{95%} = 48 a 84%) para as crianças de 4 a 7 anos^{22, 23, 61}.

A Comissão Mista Brasil-Cuba, constituída pelo Ministério da Saúde, com a finalidade de avaliar o emprego da vacina VA-MENGOC-BC em todo o Brasil (1989-90), encontrou uma eficácia estimada em 75% (IC_{95%} = 60 a 80%), resultante da avaliação obtida em seis Estados da Federação e ratificou a validade da aplicação da vacina em situações epidêmicas^{22, 61}.

ANTÍGENOS CARREADORES

Para que um antígeno seja considerado candidato a carreador da vacina anti-B, dois aspectos fundamentais devem ser preenchidos: em primeiro, o antígeno deve estar altamente distribuído entre as diferentes cepas; em segundo, deve induzir à formação de anticorpos bactericidas⁸¹. Uma vacina será eficaz quando for imunogênica e capaz de produzir uma proteção duradoura inclusive em lactentes e crianças até os 4 anos de idade. O uso de proteínas de membrana externa, principalmente de meningococo B, como carreadoras de polissacárides ou de lipooligosacárides tem sido objeto de estudo de diversos grupos internacionais de pesquisa.

Estudo sobre o comportamento de carreadores foi realizado por Lett e col.⁵⁵ que investigaram em ratos as respostas em níveis sistêmico e de mucosa, para dois polissacárides células-T independentes, um polissacáride do sorogrupo f de *Streptococcus mutans*, que contém polímeros de ramnose e glicose (RGPs), e outro, uma manana de *Saccharomyces cerevisiae*. Esses polissacárides foram conjugados covalentemente com um peptídeo linear (P3) e com um antígeno peptídico múltiplo (MAP), ambos derivados da proteína SR de *S. mutans*. Os componentes P3 e MAP, contendo ao menos um epítipo

B- e um epítipo T-dependente, foram testados como carreadores para os polissacárides e como imunógenos protetores. Em ratos imunizados via intubação gástrica, os conjugados RGP-P3, RGP-MAP, manana-P3 e manana-MAP, associados com lipossomos, produziram anticorpos da classe IgA que foram detectados em saliva. Anticorpos IgG e IgM específicos não foram encontrados em saliva. A administração de uma segunda dose de reforço nos animais mostrou que ambos os carreadores quando conjugados aos polissacárides foram capazes de induzir a uma memória IgA antipolissacáride detectada em saliva. Os ratos imunizados por via oral, com cada um dos quatro conjugados, apresentaram respostas sistêmicas primárias anti-polissacáride e anti-peptídeo, do tipo IgM, e uma resposta secundária do tipo IgG que foi caracterizada como efeito *switch* de IgM para IgG. Os resultados de Lett e col.⁵⁵ permitiram a conclusão de que tanto o peptídeo P3 quanto o MAP atuaram como bons carreadores para antígenos célula T-independentes, quando empregados por via oral.

Mandrell e Zollinger⁵⁸ empregaram anticorpos monoclonais para três diferentes proteínas de membrana externa com a finalidade de se medir a imunogenicidade dessas proteínas em duas populações, uma de indivíduos vacinados com um complexo vacínico B:2a:P1.2:P5.1:L3.7, e outra, de indivíduos que tiveram a doença meningocócica pelas cepas de sorotipo 2a e subtipo P1.2. Os soros de pacientes convalescentes apresentaram respostas anticórpicas similares de 76%, 86% e 75% para os epítopos P1.2, 2a e P5.1, respectivamente. Em comparação, os soros de vacinados exibiram 91%, 44% e 57% de soroconversão para aqueles mesmos respectivos epítopos. Houve uma extensa heterogeneidade na resposta humana às três classes de proteínas estudadas. Alguns indivíduos infectados tiveram uma alta resposta a um epítipo, mas pequena ou nenhuma resposta aos outros, enquanto que outros indivíduos não tiveram resposta mensurável a qualquer um dos epítopos. A maioria dos vacinados teve resposta aos epítopos 2a e P5.1. Alguns não tiveram respostas para quaisquer dos três epítopos, enquanto que quase 50% deles tiveram atividade somente para o epítipo P1.2. Uma imunogenicidade decrescente para as proteínas de classes 2 e 5 ou simplesmente uma diferença na capacidade de resposta a essas proteínas por causa da presença ou ausência de anticorpos pré-existentes, explica o fato de que os soros da fase convalescente tenham exibido títulos mais altos de soroconversão para os epítopos 2a e P5.1.

Outro experimento, com proteína de membrana

de classe 1, visando uma futura vacina contra o meningococo B, vem sendo desenvolvido por Muttillainen e col.^{65,66}. Para se obter uma vacina P1 em grande escala, na sua forma mais facilmente purificada e livre de endotoxinas, esses autores desenvolveram um sistema em que a P1 extraída de *Neisseria meningitidis* é expressada em um agente gram-positivo não patogênico, *Bacillus subtilis*, sob a forma de corpúsculos de inclusão intracelular denominados BacP1. Camundongos imunizados com esses lipossomos clonados e expressos em *Bacillus subtilis* produzem altos títulos de anticorpos anti-P1 que indicam a presença de epítomos capazes de assumir a conformação nativa dessa proteína. Na Holanda, onde predomina a cepa B:15:P1.7,16, van der Voort e col.⁹⁰ vêm desenvolvendo experimentos com uma vacina hexavalente composta de porinas A (*Por A*) que são proteínas de classe 1, e os resultados preliminares em modelo animal mostram que a imunização com essa vacina induz a uma resposta imune bactericida dirigida principalmente contra a *Por A* P1.7,16.

Uma proteína de membrana externa da classe 5, largamente distribuída dentro dos sorogrupos A, B, C, 29E, W e Y, e de papel importante na adesão das bactérias ao tecido epitelial, vem sendo experimentada como carreadora em vacinas polissacarídicas, e os resultados preliminares têm mostrado ser altamente imunogênica em humanos e indutora de anticorpos bactericidas⁸¹. Visando à produção de vacina contra a cepa B:4:P1.15 ET-5 prevalente no Brasil, Danelli e col.²⁴ obtiveram anticorpos monoclonais capazes de reconhecer dois epítomos nas proteínas de classe 5, designados P5.7 e P5.Bm. A obtenção de títulos apreciáveis de IgG para ambos os epítomos em soros de pacientes em fase convalescente de doença meningocócica B, permite considerar as proteínas de classe 5 como candidatas em potencial para composição da vacina.

O polissacáride B conjugado ao toxóide tetânico é fracamente imunogênico tanto em humanos como em camundongos e a conjugação covalente desse polissacáride a uma proteína carreadora deve aumentar a sua imunogenicidade, conferindo ao polissacáride propriedades de célula *T-dependente*. Uma das primeiras tentativas nesse sentido foi feita por Jennings e col.⁴⁶,⁴⁷ que prepararam uma vacina B na qual o polissacáride foi N-deacetilado sendo os grupos N-acetil substituídos por grupos N-propionil e então conjugados ao carreador toxóide tetânico. O grupo N-propionil age como uma ponte de ligação entre o polissacáride e o toxóide tetânico. Quando inoculado em camundongos, o conjugado induziu a produção de altos títulos de anticorpos da classe IgG e o antissoro obtido foi

altamente bactericida para meningococo B. A resposta obtida com esse conjugado inclui anticorpos IgG1 que se ligam ao poli-(2-8)-NeuNAc e não são bactericidas, e ainda anticorpos IgG2a e IgG2b, ambos bactericidas e eficientes nos testes de proteção passiva em camundongos.

Da mesma forma que é pouco imunogênico em humanos e em camundongos, pela tolerância aos oligômeros do ácido siálico, os sialoglicopeptídios também ligam-se a anticorpos anti-polissacáride B-específicos em cavalos, e inibem a reação sorológica do polissacáride B com os anticorpos. O mecanismo que envolve a conversão do polissacáride, fracamente imunogênico a um análogo imunogênico através da N-propionilização, não está totalmente explicado. No entanto, admite-se que epítomos responsáveis pela produção de anticorpos polissacáride B-específicos sejam dependentes de uma estrutura conformacional, e que quando o polissacáride é inoculado em cavalos é necessário um mínimo de dez resíduos contíguos de ácido siálico para gerar um epítomo capaz de qualquer ligação significativa dos anticorpos anti-polissacarídicos. O soro equino pode conter altos níveis de precipitina (360 µg de anticorpos por 250 µl de soro) dirigidos especificamente contra o polissacáride B. A massa de anticorpos consiste basicamente de IgM e traços de IgG. Em adição, o soro equino pode apresentar também níveis significativos de precipitina dirigidos contra o LPS do meningococo B e esse anti-LPS contém IgM, IgG e traços de IgA².

Bartoloni e col.⁷ empregaram o método de Devi e col.²⁵ para acoplar o polissacáride B ao toxóide tetânico ou a uma toxina diftérica mutante e atóxica denominada CRM-197, também experimentada como proteína carreadora. A ligação entre o polissacáride e a proteína se deu pela inclusão entre ambos, de uma ponte N-propionil derivada da di-hidrazida do ácido adípico (ADH) quando submetida à ação da etil-dimetil-amino-propil-carbo-di-imida (EDAC). A imunização experimental se fez em camundongos e o soro foi analisado quanto à presença de IgG e IgM anti-polissacáride B. Os resultados preliminares mostraram uma intensa resposta IgG para os dois conjugados experimentados e uma resposta IgM não significativa. Analisaram então a especificidade da resposta IgG por meio de um ensaio enzimático competitivo usando o polissacáride B nativo como competidor e o polissacáride C como controle. Nos testes de competição foram obtidas respostas divergentes em função do grau de substituição dos polissacarídeos biotinilados na reação ELISA. Os resultados finais mostraram que a maioria dos anticorpos detectados não eram específicos para o polissacáride B

mas sim, dirigidos contra os novos epítomos presentes nos conjugados resultantes, a ponte N-propionil-polissacáride ou a N-propionil-proteína, mas não ao polissacáride especificamente. A N-propionilização permite a indução de anticorpos desejados, sem induzir a anticorpos específicos contra a fração poli- (2-8)-siálico, o que seria potencialmente perigoso devido aos efeitos auto-ímmunes.

Constantino e col.²¹ experimentaram em coelhos e camundongos a vacina dupla AC conjugada a proteína CRM-197, pelo método de Devi e col.²⁵, e obtiveram bons resultados quanto a sua imunogenicidade. Anderson e col.⁴ fizeram uma avaliação experimental da vacina conjugada AC-CRM-197 em humanos. Dentre os 50 voluntários, 30 receberam uma única dose de 22, 11 ou 5,5 µg da vacina conjugada experimental AC, 10 receberam uma dose da vacina comercial ACYW135 e 10 receberam placebo. A vacina experimental AC foi bem tolerada, porém verificaram-se algumas reações locais pouco significativas. Os componentes polissacarídicos A e C foram altamente imunogênicos e as concentrações de anticorpos totais, um mês após a vacinação, não foram significativamente diferentes daquelas verificadas no grupo imunizado com a vacina tetravalente. Títulos significativos de anticorpos IgG, IgM e IgA foram verificados para os polissacarídeos A e C, nos grupos que receberam a vacina experimental. Os anticorpos medidos 6 e 12 meses após a vacinação declinaram, mas permaneceram significativamente mais altos do que aqueles da pré-vacinação. Não se registraram diferenças estatisticamente significativas quanto às concentrações de anticorpos totais para cada um dos polissacarídeos entre os três grupos que receberam a vacina experimental e aquele que recebeu a vacina tetravalente. Os citados autores admitem que essa nova vacina conjugada com a proteína CRM-197 poderá ser mais imunogênica para as crianças e assim sugeriram que sejam desenvolvidos estudos relativos à faixa etária de 0 a 2 anos. Atendendo a esse propósito, Farley e col.²⁷, experimentaram em 58 crianças de 2 meses de idade, uma vacina dupla AC conjugada à proteína CRM-197 (composição: 11,2 µg de A + 11,7 µg de C + 48,7 µg de CRM-197, por dose). As crianças foram imunizadas com três doses, aos 2, 3 e 4 meses de idade. As médias geométricas dos títulos de anticorpos (GMTs) contra os polissacarídeos A e C, de 2,8 e 0,6 µg/ml, respectivamente, na pré-vacinação, subiram para 21,5 e 38,5 µg/ml um mês após a terceira dose (idade de 5 meses) e caíram para 3,1 e 2,2 µg/ml aos 14 meses de idade. Os títulos de atividade bactericida contra meningococo C subiram de <1/4 na pré-vacinação para 1/3.082 ao final da terceira dose, e aos 14 meses de idade caíram para 1/10. O experimento, segundo os refe-

ridos autores, mostrou que a vacina AC-CRM-197 foi segura e imunogênica para as crianças menores de 2 anos.

A fim de se resolver o problema de imunogenicidade dos meningococos B e C, Devi e col.²⁵ propuseram uma vacina obtida a partir de polissacáride de *Escherichia coli* K92, a qual contém o ácido poli- (2-8)/(2-9)-N-acetil neuramínico (ou ácido colomínico), onde estão presentes as ligações -(2-8) e -(2-9) dos dois polissacarídeos de meningococos B e C, respectivamente. A vacina obtida com esse polissacáride K92 conjugado ao toxóide tetânico através da dihidrazida do ácido adípico, quando experimentada em camundongos, induziu a produção de anticorpos das classes IgM e IgG, tanto anti-poli- (2-8)-NeuNAc como anti-poli- (2-9)-NeuNAc. Essa vacina teria a vantagem de imunizar tanto contra infecções por meningococos B e C como por *Escherichia coli* K1, bastante comum nas meningites em lactentes. Peltola e col.⁷¹ fizeram um estudo comparativo entre duas vacinas anti-*Haemophilus influenzae* tipo b, uma, a PRP-D, constituída do polirribosfato conjugado com toxóide diftérico, e outra, a HBOC, contendo o oligossacáride conjugado à proteína CRM-197. Os estudos de Peltola e col.⁷¹ vieram favorecer novos experimentos com os polissacarídeos meningocócicos conjugados à CRM-197. O sucesso alcançado com a vacina HBOC levou Twumasi e col.⁸⁷ a avaliarem a imunogenicidade e a segurança de uma nova vacina meningocócica dupla AC conjugada com CRM-197 (Biocine, Siena, Itália). Essa nova vacina foi aplicada em 304 crianças gambianas de 8 a 10 semanas de idade. Um grupo de crianças foi imunizado com uma, duas e três doses de AC-CRM-197, e outro, com a antiga vacina polissacarídica AC. A nova vacina produziu poucos efeitos colaterais e reações locais similares àquelas já conhecidas quando do uso do polissacáride AC. Além de induzir a níveis satisfatórios de anticorpos anti-A e anti-C, a vacina AC conjugada com CRM-197 em duas doses foi mais imunogênica do que a vacina polissacarídica AC, também em duas doses.

CONCLUSÃO

Em fins dos anos 1960 e começo dos anos 1970 verificou-se que a imunização com polissacarídeos de meningococos dos sorogrupos A e C podia induzir à produção de anticorpos bactericidas. Surgiram então as vacinas A e C que são utilizadas no controle das epidemias. Entretanto, além dos sorogrupos A e C, responsáveis por epidemias em diversos países, havia um outro problema a resolver, com relação às epidemias por sorogrupos Y e W135 que ocorrem de modo mais freqüente em populações restritas a ambientes fechados como em quartéis militares. Surgiu, então, em fins

dos anos 70, a vacina tetravalente ACYW135. Contudo, inúmeras desvantagens ainda estão associadas com as vacinas polissacarídicas. Em primeiro lugar, o fato de que os polissacarídeos são antígenos células-T independentes, não conferindo uma resposta imune adequada, principalmente nas crianças abaixo dos 2 anos e não induzindo a memória imunológica, isto é, a imunidade de longa duração. Esse problema pode ser contornado pela ligação covalente dos polissacarídeos a antígenos protéicos carreadores. Entretanto, um maior problema no desenvolvimento das vacinas está em relação ao polissacarídeo do meningococo B que é fracamente imunogênico pela sua semelhança com componentes celulares humanos. Os epítomos presentes nas frações lineares desse polissacarídeo não é suficientemente imunogênico e os anticorpos de baixa afinidade, quando induzidos, parecem ser dirigidos contra a estrutura conformacional dos epítomos antigênicos capsulares. Diversas vacinas têm sido experimentadas contra o meningococo B, entretanto nenhuma até o momento satisfatória, não só pela sua baixa imuno-

genicidade como também devido a ampla variação fenotípica dos antígenos de membrana externa. As vacinas norueguesa e cubana até o presente momento não foram satisfatórias com exceção em alguns estudos estritamente localizados, fornecendo resultados bastante controversos ou discutíveis. Os estudos em desenvolvimento com proteínas carreadoras constituem-se numa grande esperança para a resolução dos problemas de imunogenicidade das vacinas polissacarídicas. Da mesma forma, o emprego de antígenos polissacarídicos de reatividade cruzada como o ácido colomínico da *Escherichia coli* K92, ligado a uma proteína carreadora, poderá levar em breve ao surgimento de uma vacina segura e eficaz contra os meningococos B e C. Uma vacina K92 conjugada com CRM-197, ainda não experimentada, seria uma alternativa a se estudar, para os países onde os sorogrupos B e C são predominantes na doença meningocócica. Uma vacina anti-meningocócica ideal será aquela imunogênica em todas as faixas etárias e que confira proteção imunológica contra todos os meningococos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AL-EISSA, Y.A. Reactogenicity and safety of meningococcal A and C vaccine in Saudi children. *Ann. Trop. Paediatr.*, **14**:275-9, 1994.
2. ALLEN, P.Z.; GLODE, M.; SCHNEERSON, R.; ROBBINS, J.B. Identification of immunoglobulin heavy-chain isotypes of specific antibodies of horse 46 group B meningococcal antiserum. *J. Clin. Microbiol.*, **15**:324-9, 1982.
3. AMBROSCH, F.; WIEDERMANN, G.; CROOY, P.; GEORGE, A.M. Immunogenicity and side-effects of a new tetravalent meningococcal polysaccharide vaccine. *Bull. WHO*, **61**:317-23, 1983.
4. ANDERSON, E.L.; BOWERS, T.; MINK, C.M.; KENNEDY, D.J.; BELSHE, R.B.; HARAKEY, H.; PAIS, L.; HOLDER, P.; CARLONE, G.M. Safety and immunogenicity of meningococcal A and C polysaccharide conjugate vaccine in adults. *Infect. Immun.*, **62**:3391-5, 1994.
5. ANDRE, F.E.; SAFARY, A.; KARANKO, U.; PELTOLA, H. Reactogenicity and immunogenicity of a tetravalent meningococcal vaccine in different age groups. *Med. Trop.*, **43**:201-2, 1983.
6. ARTENSTEIN, M.S.; GOLD, R.; ZIMMERLY, J.G.; WYLE, F.A.; SCHNEIDER, H.; HARKINS, C. Prevention of meningococcal disease by group C polysaccharide vaccine. *N. Engl. J. Med.*, **282**:417-20, 1970.
7. BARTOLONI, A.; NORELLI, F.; CECCARINI, C.; RAPPUOLI, R.; CONSTANTINO, P. Immunogenicity of meningococcal B polysaccharide conjugated to tetanus toxoid or CRM197 via adipic acid dihydrazide. *Vaccine*, **13**:463-70, 1995.
8. BISELLI, R.; FATTOROSI, A.; MATRICARDI, P.M.; NISINI, R.; STROFFOLINI, T.; D'AMELIO, R.D. Dramatic reduction of meningococcal meningitis among military recruits in Italy after introduction of specific vaccination. *Vaccine*, **11**:578-81, 1993.
9. BJUNE, G.; HOIBY, E.A.; GRONNESBY, J.K.; ARNESEN, O.; FREDRIKSEN, J.H.O.; HALTSTENSEN, A.; HOLTEN, E.; LINDBAK, A.K.; NOKLEBY, H.; ROSENQVIST, E.; SOLBERG, L.K.; CLOSS, O.; FROHOLM, L.O.; LYSTAD, A.; BAKKETEIG, L.S.; HAREID, B. Effect of outer membrane vesicle vaccine against group B meningococcal disease in Norway. *Lancet*, **338**:1093-6, 1991.
10. BOSLEGO, J.; GARCIA, J.; CRUZ, C.; ZOLLINGER, W. and the Chilean National Committee for Meningococcal Disease. Efficacy, safety, and immunogenicity of a meningococcal group B (15:P1.3) outer membrane protein vaccine in Iquique, Chile. *Vaccine*, **13**:821-9, 1995.
11. BRANDT, B.L.; SMITH, C.D.; ARTENSTEIN, M.S. Immunogenicity of serogroup A and C *Neisseria meningitidis* polysaccharide vaccines administered together in humans. *J. Infect. Dis.*, **137**:202-5, 1978.
12. BRISSON, J.R.; BAUMANN, H.; IMBERETY, A.; PÉREZ, S.; JENNINGS, H.J. Helical epitope of the group B meningococcal -(2-8)-linked sialic acid polysaccharide. *Biochemistry*, **31**:4996-5004, 1992.
13. CADOZ, M.; ARMAND, J.; ARMINJON, F.; GIRE, R.; LAFAIX, Ch. Tetravalent (A, C, Y, W135) meningococcal vaccine in children: immunogenicity and safety. *Vaccine*, **3**:340-2, 1985.

14. CEESAY, S.J.; ALLEN, S.J.; MENON, A.; TODD, J.E.; CHAM, K.; CARLONE, G.M.; TURNER, S.H.; GREENWOOD, B. Decline in meningococcal antibody levels in African children 5 years after vaccination and the lack of an effect of booster immunization. *J. Infect. Dis.*, **167**:1212-16, 1993.
15. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Meningococcal polysaccharide vaccines. *M.M.W.R.*, **24**:381-2, 1975b.
16. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Inactivated-bacteria vaccines. Meningococcal disease. *M.M.W.R.*, **33**:28S-29S, 1984.
17. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Epidemic meningococcal disease: recommendations for Travelers to Nepal. *M.M.W.R.*, **34**:119-25, 1985.
18. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Meningococcal vaccines. *M.M.W.R.*, **34**:255-9, 1985.
19. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Epidemic meningococcal disease - Kenya and Tanzania: recommendations for travelers, 1990. *M.M.W.R.*, **39**:1-14, 1990a.
20. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Availability of meningococcal vaccine in single-dose vials for travelers and high-risk persons. *M.M.W.R.*, **39**:763, 1990b.
21. CONSTANTINO, P.; VITI, S.; PODDA, A.; VELMONTE, M.A.; NENCIONI, L.; RAPPUOLI, R. Development and phase 1 clinical testing of a conjugate vaccine against meningococcus A and C. *Vaccine*, **10**:691-8, 1992.
22. COSTA, E.A.; AMARAL Jr, C.; JUAREZ, E. Eficácia da vacina antimeningocócica (VA-MENGOC BC) nas condições de uso no Brasil, no período 1989/90. *Inf. Epidemiol. SUS*, **3** (2):35-9, 1995.
23. COSTA, E.A.; MARTINS, H.; KLEIN, C.H. Avaliação da proteção conferida pela vacina antimeningocócica BC no Estado de Santa Catarina, Brazil, 1990/92. *Rev. Saúde Pública*, **30**:460-70, 1996.
24. DANELLI, M.G.M.; ALVES, C.M.A.; BASTOS, R.C.; BATOREU, N.M.; BARROSO, D.E.; PERALTA, J.M.; FRASCH, C.E. Human immune response to epitopes on the meningococcal outer membrane class 5 protein following natural infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, **15**:159-68, 1996.
25. DEVI, S.J.N.; ROBBINS, J.B.; SCHNEERSON, R. Antibodies to poly-(2-8)-N-acetylneuraminic acid and poly-(2-9)-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.*, **88**:7175-9, 1991.
26. ERWA, H.H.; HASEEB, M.A.; IDRIS, A.A.; LAPEYSSONNIE, L.; SANBORN, W.R. A serogroup A meningococcal polysaccharide vaccine. Studies in the Sudan to combat cerebrospinal meningitis caused by *Neisseria meningitidis* group A. *Bull. WHO.*, **49**:301-5, 1973.
27. FAIRLEY, C.K.; BEGG, N.; BORROW, R.; FOX, A.J.; JONES, D.M.; CARTWRIGHT, K. Conjugate meningococcal serogroup A and C vaccine: reactogenicity and immunogenicity in United Kingdom infants. *J. Infect. Dis.*, **174**:1360-3, 1996.
28. FARQUHAR, J.D.; HANKINS, W.A.; DESANTIS, A.N.; DEMEIO, J.L.; METZGAR, D.P. Clinical and serological evaluation of a meningococcal polysaccharide vaccine groups A, C and Y. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **157**:79-82, 1978.
29. FRASCH, C.E.; PARKES, L.; McNELIS, R.M.; GOTSCHLICH, E.C. Protection against group B meningococcal disease. I. Comparison of group-specific and type-specific protection in the chick embryo model. *J. Exp. Med.*, **144**:319-29, 1976.
30. FRASCH, C.E.; COETZEE, G.; ZAHRADNIK, J.M.; FELDMAN, H.A. Development and evaluation of group B serotype 2 protein vaccines: report of a group B field trial. *Med. Trop.*, **43**:177-80, 1983.
31. FRASCH, C.E.; MOCCA, L.F.; KARPAS, A.B. Appearance of new strains associated with group B meningococcal disease and their use for rapid vaccine development. *Antonie van Leeuwenhoek*, **53**:395-402, 1987.
32. FRASCH, C.E. Prospects for the prevention of meningococcal disease: special reference to group B. *Vaccine*, **5**:3-4, 1987.
33. FROHOLM, L.O.; BERDAL, B.P.; BOVRE, K.; Study Group of Meningitis. Preliminary results from a clinical trial with a meningococcal vaccine containing serotype 2b and 15 antigens in complex with mixed A, C, Y and W135 polysaccharides. *Antonie van Leeuwenhoek*, **52**:239-41, 1986.
34. GALAZKA, A. Meningococcal disease and its control with meningococcal polysaccharide vaccines. *Bull. WHO.*, **60**:1-7, 1982.
35. GOLD, R. & ARTENSTEIN, M.S. Meningococcal infections. 2. Field trial of group C meningococcal polysaccharide vaccine in 1969-70. *Bull. WHO.*, **45**:279-82, 1971.
36. GOLD, R.; LEPOW, M.L.; GOLDSCHNEIDER, I.; DRAPER, T.I.; GOTSCHLICH, E.C. Clinical evaluation of group A and C meningococcal polysaccharide in infants. *J. Clin. Invest.*, **56**:1536-47, 1975.
37. GOLD, R & LEPOW, M.L. Present status of polysaccharide vaccines in the prevention of meningococcal disease. *Adv. Pediatr.*, **23**:71-93, 1976.
38. GOLDSCHNEIDER, I.; LEPOW, M.L.; GOTSCHLICH, E.C. Immunogenicity of the group A and group C meningococcal polysaccharides in children. *J. Infect. Dis.*, **125**:509-19, 1972.
39. GOTSCHLICH, E.C.; AUSTRIAN, R.; CVJETANOVIC, B.; ROBBINS, J.B. Prospects for the prevention of bacterial meningitis with polysaccharide vaccines. *Bull. WHO.*, **56**:509-18, 1978.
40. GOTSCHLICH, E.C.; FRASER, B.A.; NISHIMURA, J.B.; ROBBINS, J.B.; LIU, T.Y. Lipid on capsular polysaccharides of gram-negative bacteria. *J. Biol. Chem.*, **256**:8915-21, 1981.

41. GRIFFISS, J.M.; BRANDT, B.L.; ALTIERI, P.L.; PIER, G.B.; BERMAN, S.L. Safety and immunogenicity of group Y and group W135 meningococcal capsular polysaccharide vaccines in adults. *Infect. Immun.*, **34**:725-32, 1981.
42. GRIFFISS, J.M.; BRANDT, B.L.; ALTIERI, P.L.; PIER, G.B.; BERMAN, S.L. Safety and immunogenicity of a group 29E meningococcal capsular polysaccharide vaccine in adults. *Infect. Immun.*, **39**:247-52, 1983.
43. HALSTENSEN, A.; SJURSEN, H.; VOLLSET, S.E.; FROHOLM, L.O.; NASS, A.; SOLBERG, C.O. Serum opsonins to serogroup B meningococci in meningococcal disease. *Scand. J. Infect. Dis.*, **21**:267-76, 1989.
44. JACKSON, L.A.; SCHUCHAT, A.; GORSKY, R.D.; WENGER, J.D. Should college students be vaccinated against meningococcal disease? A cost-benefit analysis. *Am. J. Public. Health*, **85**:843-5, 1995.
45. JENNINGS, H.J.; ROY, R.; MICHON, F. Determinant specificities of the groups B and C polysaccharides of *Neisseria meningitidis*. *J. Immunol.*, **134**:2651-7, 1985.
46. JENNINGS, H.J.; ROY, R.; GAMIAN, A. Induction of meningococcal group B polysaccharide-specific IgG antibodies in mice by using an N-propionylated B polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine. *J. Immunol.*, **137**:1708-13, 1986.
47. JENNINGS, H.J.; GAMIAN, A.; ASHTON, F.E. N-propionylated group B meningococcal polysaccharide mimics a unique epitope on group B *Neisseria meningitidis*. *J. Exp. Med.*, **165**:1207-11, 1987.
48. KAYHTY, H.; KARANKO, V.; PELTOLA, H.; SARNA, S.; MAKELA, H. Serum antibodies to capsular polysaccharide vaccine of group A *Neisseria meningitidis* followed for three years in infants and children. *J. Infect. Dis.*, **142**:861-8, 1980.
49. KING, W.J.; MACDONALD, N.E.; WELLS, G.; HUANG, J.; ALLEN, U.; CHAN, F.; FERRIS, W.; ASHTON, F. Total and functional antibody response to a quadrivalent meningococcal polysaccharide vaccine among children. *J. Pediatr.*, **128**:196-202, 1996.
50. LEHMANN, A.K.; HALSTENSEN, A.; NAESS, A.; VOLLSET, S.E.; SJURSEN, H.; BJUNE, G. Immunization against serogroup B meningococci. Opsonin response in vaccines as measured by chemiluminescence. *Acta Pathol Microbiol. Immunol. Scand.*, **99**:769-72, 1991.
51. LE MOLI, S.; MATRICARDI, P.M.; QUINTI, I.; STROFFOLINI, T.; D'AMELIO, R. Clonotypic analysis of human antibodies specific for *Neisseria meningitidis* polysaccharides A and C in adults. *Clin. Exp. Immunol.*, **83**:460-5, 1991.
52. LENNON, D.; GELLIN, B.; HOOD, D.; VOSS, L.; HEFFERNAN, H.; THAKUR, S. Successful intervention in a group A meningococcal outbreak in Auckland, New Zealand. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, **11**:617-23, 1992.
53. LENNON, D.; GELLIN, B.; HOOD, D. Control of epidemic group A meningococcal disease in Auckland. *New Zealand Med. J.*, **5**:3-6, 1993.
54. LEPOW, M.L.; GOLDSCHNEIDER, I.; GOLD, R.; RANDOLPH, M.; GOTSCHLICH, E.C. Persistence of antibody following immunization of children with groups A and C meningococcal polysaccharide vaccines. *Pediatrics*, **60**:673-80, 1977.
55. LETT, E.; KLOPFENSTEIN, C.; KLEIN, J.P.; SCHOLLER, M.; WACHSMANN, D. Mucosal immunogenicity of polysaccharides conjugated to a peptide or multiple-antigen peptide containing T- and B-cell epitopes. *Infect. Immun.*, **63**:2645-51, 1995.
56. LIFELY, M.R.; ROBERTS, S.C.; SHEPHERD, W.M.; ESDAILE, J.; WANG, Z.; CLEVERLY, A.; AULAQI, A.A.; MORENO, C. Immunogenicity in adult males of a *Neisseria meningitidis* group B vaccine composed of polysaccharide complexed with outer membrane proteins. *Vaccine*, **9**:60-6, 1991.
57. LIU, T.Y.; GOTSCHLICH, E.C.; DUNNE, F.T.; JONSSON, E.K. Studies on the meningococcal polysaccharides. II. Composition and chemical properties of the group B and group C polysaccharides. *J. Biol. Chem.*, **246**:4703-12, 1971.
58. MANDRELL, R.E. & ZOLLINGER, W.D. Human immune response to meningococcal outer membrane protein epitopes after natural infection or vaccination. *Infect. Immun.*, **57**:1590-8, 1989.
59. MILAGRES, L.G. & MELLES, C.E. Imunidade conferida por vacinas anti-meningocócicas. *Rev. Saúde Pública*, **27**:221-6, 1993.
60. MILAGRES, L.G.; RAMOS, S.R.; SACCHI, C.T.; MELLES, C.E.; VIEIRA, V.S.D.; SATO, H.; BRITO, G.S.; MORAES, J.C.; FRASCH, C.E. Immune response of Brazilian children to a *Neisseria meningitidis* serogroup B outer membrane protein vaccine: comparison with efficacy. *Infect. Immun.*, **62**:4419-24, 1994.
61. MINISTÉRIO DA SAÚDE. COMISSÃO MISTA BRASIL-CUBA. Relatório sobre a avaliação da eficácia da vacina antimeningocócica BC de origem cubana. *Inf. Epidemiol. SUS*, **3** (2):7-32, 1995.
62. MOHAMMED, I. & ZARUBA, K. Control of epidemic meningococcal meningitis by mass vaccination. *Lancet*, **2**:80-3, 1981.
63. MORAES, J.C.; PERKINS, B.A.; CAMARGO, M.C.C.; HIDALGO, N.T.R.; BARBOSA, H.A.; SACCHI, C.T.; GRAL, I.M.L.; GATTAS, V.L.; VASCONCELOS, H.G.; PLIKAYTIS, B.D.; WENGER, J.D.; BROOME, C.V. Protective efficacy of a serogroup B meningococcal vaccine in São Paulo, Brazil. *Lancet*, **340**:1074-8, 1992.
64. MORENO, J.G.; MIRANDA, M.S.P.; VICENT, P.; CALDERÓN, B. Evaluación serológica de la vacuna antimeningocócica polivalente A-C en Chile. *Bol. Of. Sanit. Panam.*, **93**:149-57, 1982.

65. MUTTILAINEN, S.; BUTCHER, S.J.; RONEBERG, K.; NURMINEN, M.; IDÄNPÄÄN-HEIKKILÄ, I.; WAHLSTRÖM, E.; SARVAS, M. Heterologous production of the P1 porin of *Neisseria meningitidis* in *Bacillus subtilis*: the effect of an N-terminal extension on the presentation of native-like epitopes. *Microbial Pathog.*, **18**:365-71, 1995.
66. MUTTILAINEN, S.; IDÄNPÄÄN-HEIKKILÄ, I.; WAHLSTRÖM, E.; NURMINEN, M.; MÄKELÄ, H.; SARVAS, M. The *Neisseria meningitidis* outer membrane protein P1 produced in *Bacillus subtilis* and reconstituted into phospholipid vesicles elicits antibodies to native P1 epitopes. *Microbial Pathog.*, **18**:423-36, 1995.
67. NORONHA, C.P.; STRUCHINER, C.J.; HALL-ORAN, M.E. Assessment of the direct effectiveness of BC meningococcal vaccine in Rio de Janeiro, Brazil: a case-control study. *Intern. J. Epidemiol.*, **24**:1050-6, 1995.
68. O'DEMPSEY, T.J.D.; McARDLE, T.; CEESAY, S.J.; SECKA, O.; DEMBA, E.; BANYA, W.A.S.; FRANCIS, N.; GREENWOOD, B.M. Meningococcal antibody titres in infants of women immunised with meningococcal polysaccharide vaccine during pregnancy. *Arch. Dis. Child.*, **74**:F43-F46, 1996.
69. PELTOLA, H.; MAKELA, P.H.; KÄYHTY, H.; JOUSIMIES, H.; HERVA, E.; HÄLLSTRÖM, K.; SIVONEN, A.; RENKONEN, O.V.; PETTAY, O.; KARANKO, V.; AHVONEN, P.; SARNA, S. Clinical efficacy of meningococcus group A capsular polysaccharide vaccine in children three months to five years of age. *N. Engl. J. Med.*, **297**:686-91, 1977.
70. PELTOLA, H. Meningococcal disease: still with us. *Rev. Infect. Dis.*, **5**:71-91, 1983.
71. PELTOLA, H.; ESKOLA, J.; KÄYHTY, H.; TAKALA, A.K.; MAKELA, P.H. Clinical comparison of the *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide-diphtheria toxoid and the oligosaccharide-CRM197 protein vaccines in infancy. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, **148**:620-5, 1994.
72. PINNER, R.W.; ONYANGO, F.; PERKINS, B.A. Epidemic meningococcal disease in Nairobi, Kenya, 1989. *J. Infect. Dis.*, **166**:359-64, 1992.
73. PLATONOV, A.E.; BELOBORODOV, V.B.; PAVLOVA, L.I.; VERSHININA, I.V.; KÄYHTY, H. Vaccination of patients deficient in a late complement component with tetravalent meningococcal capsular polysaccharide vaccine. *Clin. Exp. Immunol.*, **100**:32-9, 1995.
74. RAFF, H.V.; DEVEREUX, D.; SHUFORD, W.; ABBOT-BROWN, D.; MALONEY, G. Human monoclonal antibody with protective activity for *Escherichia coli* K1 and *Neisseria meningitidis* group B infections. *J. Infect. Dis.*, **157**:118-26, 1988.
75. RAO, B.; AYYAGARI, A.; SHARMA, M. Evaluation of antibody response in meningococcal patients, contacts and vaccinees in North India. *Trop. Geogr. Med.*, **43**:111-3, 1991.
76. REINGOLD, A.L.; HIGHTOWER, A.W.; BOLAN, G.A.; JONES, E.E.; TIENDREBEOGO, H.; BROOME, C.V.; AJELLO, G.W.; ADAMSBAUM, C.; PHILLIPS, C.; YADA, A. Age-specific differences in duration of clinical protection after vaccination with meningococcal polysaccharide A vaccine. *Lancet*, **2**:114-8, 1985.
77. REQUEJO, H.I.Z. Neisseria meningitidis: análise dos antígenos de membrana externa e distribuição geográfica dos sorotipos e subtipos. *LAES-HAES*, **103**:98-120, 1996.
78. ROBERTS, R.B. The relationship between group A and C meningococcal polysaccharides and serum opsonins in man. *J. Exp. Med.*, **131**:499-513, 1970.
79. ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. *Imunologia*. São Paulo, Editora Manole Ltda, 1989.
80. ROSENQVIST, E.; HARTHUG, S.; FROHOLM, L.O.; HOIBY, E.A.; BOVRE, K.; ZOLLINGER, W.D. Antibody responses to serogroup B meningococcal outer membrane antigens after vaccination and infection. *J. Clin. Microbiol.*, **26**:1543-8, 1988.
81. ROSENQVIST, E.; HOIBY, E.A.; WEDEGE, E.; KUSECEK, B.; ACHTMAN, M. The 5C protein of *Neisseria meningitidis* is highly immunogenic in humans and induces bactericidal antibodies. *J. Infect. Dis.*, **167**:1065-73, 1993.
82. ROSS, S.C.; ROSENTHAL, P.J.; BERBERICH, H.M.; DENSEN, P. Killing of *Neisseria meningitidis* by human neutrophils: implications for normal and complement-deficient individuals. *J. Infect. Dis.*, **155**:1266-75, 1987.
83. SIERRA, V.G.; CAMPA, C.; TERRY, H.; ECHEVERRY, M.L. Epidemiologic and laboratory evaluation of the Cuban meningococcal vaccine BC, three years of follow-up. In: *Pathobiology and Immunobiology of Neisseriaceae*, Eighth International Pathogenic Neisseria Conference, Mexico, 1994, p. 909-15.
84. TAUNAY, A.E.; GALVÃO, P.A.; MORAIS, J.S.; GOTSCHLICH, E.C.; FELDMAN, R.A. Disease prevention by meningococcal serogroup C polysaccharide vaccine in preschool children. *Pediatr. Rev.*, **8**:429-36, 1974.
85. TAUNAY, A.E. Aspectos etiológicos da doença meningocócica. *Atual. Med.*, **11**:21-32, 1975.
86. TAUNAY, A.E.; FELDMAN, R.A.; BASTOS, C.O.; GALVÃO, P.A.A.; MORAES, J.S.; CASTRO, I.O. Avaliação do efeito protetor de vacina polissacarídica antimeningocócica do grupo C, em crianças de 6 a 36 meses. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **38**:77-82, 1978.
87. TWUMASI Jr, P.A.; KUMAH, S.; LEACH, A.; O'DEMPSEY, T.J.D.; CEESAY, S.J.; TODD, J.; BROOME, C.V.; CARLONE, G.M.; PAIS, L.B.; HOLDER, P.K.; PLIKAYTIS, B.D.; GREENWOOD, B.M. A trial of a group A plus group C meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccine in African infants. *J. Infect. Dis.*, **171**:632-8, 1995.
88. URIBE, M.L.E.; AGUERO, J.A.M.; MARÍN, L.A.G.; Study Group of Meningococcal Vaccines. Respuesta inmune humoral a las proteínas de una vacuna antimeningocócica BC en un ensayo realizado en Antioquia, Colombia. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*, **118**:285-94, 1995.
89. URIBE, M.L.E.; AGUERO, J.A.M.; MARÍN, L.A.G.; Study Group of Meningococcal Vaccines. Respuesta inmune humoral al polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis*

- serogroup C en un ensayo de vacunación antimeningocócica BC en Antioquia, Colombia. *Bol. Ofic. Sanit. Panam.*, **118**:295-301, 1995.
90. van der VOORT, E.R.; van der LEY, P.; van der BIEZEN, J.; GEORGE, S.; TUNNELA, O.; van DIJKEN, H.; KUIPERS, B.; POOLMAN, J. Specificity of human bactericidal antibodies against Por A P1.7,16 induced with a hexavalent meningococcal outer membrane vesicle vaccine. *Infect. Immun.*, **64**:2745-51, 1996.
91. WAHDAN, M.H.; RIZK, F.; EL-AKKAD, A.M. A controlled field trial of a serogroup A meningococcal polysaccharide vaccine. *Bull. WHO*, **46**:667-73, 1973.
92. WAHDAN, M.H.; SALLAM, S.A.; HASSAN, M.N.; GAWAD, A.A.; RAKHA, A.S.; SIPPEL, J.E.; HABLAS, R.; SANBORN, W.R.; KASSEN, N.M.; RIAD, S.M.; CVJETANOVIC, B. A second controlled field trial of a serogroup A meningococcal polysaccharide vaccine in Alexandria. *Bull. WHO.*, **55**:645-51, 1977.
93. WANG, L.Y. & FRASCH, C.E. Development of a *Neisseria meningitidis* group B serotype 2b protein vaccine and evaluation in a mouse model. *Infect. Immun.*, **46**:408-14, 1984.
94. WANG, L.Y.; WANG, J.H.; LIANG, S.L. Preparation, standardization of meningococcal group A serotype 4 protein antigen (vaccine) in China. In: *Pathobiology and Immunobiology of Neisseriaceae*. Eighth International Pathogenic *Neisseria* Conference, Mexico, 1994, p. 940-6.
95. YERGEAU, A.; ALAIN, L.; PLESS, R.; ROBERT, Y. Adverse events temporally associated with meningococcal vaccines. *Can. Med. Assoc. J.*, 154:503-7, 1996.
96. ZANGWILL, K.M.; STOUT, R.W.; CARLONE, G.M.; PAIS, L.; HAREKEH, H.; MITCHELL, S.; WOLFE, W.H.; BLACKWOOD, V.; PLIKAYTIS, B.D.; WENGER, J.D. Duration of antibody response after meningococcal polysaccharide vaccination in US Air Force personnel. *J. Infect. Dis.*, **169**:847-52, 1994.
97. ZOLLINGER, W.D.; MANDRELL, R.E; ALTIERI, P.; BERMAN, S.; LOWENTHAL, J.; ARTENSTEIN, M.S. Safety and immunogenicity of a *Neisseria meningitidis* type 2 protein vaccine in animals and humans. *J. Infect. Dis.*, **137**:728-39, 1978.
98. ZOLLINGER, W.D.; BOSLEGO, J.; FROHOLM, L.O.; RAY, J.S.; MORAN, E.E.; BRANDT, B.L. Human bactericidal antibody response to meningococcal outer membrane protein vaccines. *Antonie van Leewenhoek*, **53**:403-11, 1987.
99. ZOLLINGER, W.D. & MORAN, E. Meningococcal vaccines - present and future. *Royal Soc. Trop. Med. Hyg.*, **85** (Suppl.1):37-48, 1991.
100. ZOLLINGER, W.D.; BOSLEGO, J.; MORAN, E. The Chilean National Committee for Meningococcal Disease. Meningococcal serogroup B vaccine protection trial and follow-up studies in Chile. *NIPH Ann.*, **14**:211-3, 1991.