REVISIONES

Perspectivas de la vacuna frente al meningococo B

J. A. Navarro Alonso

Consejería de Sanidad y Consumo. Murcia.

Introducción

La enfermedad meningocócica ocupa un puesto relevante en las causas de morbimortalidad en las sociedades de países desarrollados y en las de aquéllos que se encuentran en vías de desarrollo. Tradicionalmente la originada por el serogrupo A se circunscribe a la región africana denominada «cinturón subsahariano», que se extiende desde Etiopía en el este hasta Senegal en el oeste y se caracteriza por precipitaciones anuales comprendidas entre los 300 y 1.100 milímetros, con una incidencia estimada de 800.000 casos en el período 1970-1992¹. La producida por el serogrupo B tiene una especial relevancia en el norte y sur de Europa, y en los continentes americano y australiano, mientras que la enfermedad meningocócica por serogrupo C ha adquirido especial importancia últimamente en Canadá, Reino Unido, Irlanda, República Checa y España. Aunque la incidencia de enfermedad meningocócica por los serogrupos Y y W135 está aumentando en algunos países², aún contribuyen en escasa cuantía al global de la enfermedad.

Al margen de un diagnóstico y tratamiento precoces orientados a contener la mortalidad que genera la enfermedad meningocócica, y que se estima para los países occidentales en una letalidad de la septicemia de alrededor de un 20% y de la meningitis aislada en un 5%³, es extraordinariamente importante el poder disponer de medios que con mayor o menor eficacia eviten en lo posible la aparición de la enfermedad.

En este sentido, se dispone de vacunas desde hace tres décadas frente a los serogrupos A, C, Y y W135, y de vacunas desde hace diez años, aunque no comercializadas en nuestro país, frente al serogrupo B. Las primeras han mostrado una utilidad, en ocasiones muy importante, para reducir el impacto de la enfermedad meningocócica, como recientemente hemos comprobado en nuestro país, pero en general adolecen de una serie de características que no han permitido su generalización y, por tanto, su inclusión en los calendarios vacunales ordinarios.

A continuación se revisan las últimas novedades en cuanto a las vacunas frente a los serogrupos de la *Neisseria meningitidis* más comúnmente implicados en la enfermedad meningocócica, haciendo especial hincapié en lo referente al serogrupo B.

Vacunas frente al meningococo de los serogrupos A y C

Debido a la buena inmunogenicidad generada por el polisacárido capsular de la *Neisseria meningitidis* de los serogrupos A y C, aquél ha sido el constituyente básico de las vacunas hasta ahora disponi-

bles. El hecho de que el polisacárido evoque una respuesta inmune dependiente de los linfocitos B conlleva que sea poco inmunógena en lactantes (fundamentalmente el polisacárido C) y que no provoque la aparición de memoria inmunológica en sucesivas administraciones del antígeno, pudiendo observarse incluso una hiporrespuesta parcial a dosis sucesivas. Estos hechos motivan que no sea viable su inclusión en los calendarios vacunales sistemáticos, reservándose su uso para situaciones de brotes epidémicos, en los que ha demostrado en general una buena efectividad⁴⁻¹², que ha sido variable según las edades estudiadas, pero que ha oscilado entre el 77% y el 97%¹³.

A mediados de esta década surgen vacunas bien frente a uno (A o C) o a los dos polisacáridos (A + C), en las que se conjuga covalentemente aquél con una proteína transportadora o *carrier*, al igual que en su día se hizo con el polisacárido capsular del *Haemophilus influenzae* b, de tal manera que al presentar un antígeno proteico cambia la rama de la respuesta inmune hacia una de tipo linfocito T dependiente, con la que teóricamente se conseguiría una buena inmunogenicidad en niños menores de 18 meses y se generaría una buena respuesta anamnésica con administraciones repetidas, esto es, corto período de respuesta, dosis baja para estimular el sistema inmune, aparición de anticuerpos, fundamentalmente de las subclases IgG1, en altas concentraciones, de larga duración y alta avidéz por el antígeno. El transportador proteico utilizado ha sido el toxoide tetánico, toxoide diftérico o la toxina mutante diftérica atóxica CRM₁₉₇.

En los últimos años ya están apareciendo los primeros resultados de los ensayos clínicos en humanos¹⁴⁻²², cuyos aspectos más relevantes se pueden sintetizar en que la vacuna conjugada anti-meningocócica A + C es segura, inmunógena para primovacuna-ción y para revacunaciones de vacunados previamente con polisa-cárida y que genera la aparición de memoria inmunológica.

El primer país en introducir esta nueva vacuna conjugada de forma sistemática en calendario vacunal será probablemente el Reino Unido, que tiene previsto iniciar un programa de vacunación para el mes de noviembre de 1999, dirigido a lactantes, niños en el segundo año de la vida y jóvenes de 15 a 17 años. Las vacunas serán suministradas en un principio por Wyeth Laboratories Ltd, al que se unirán más tarde Chiron Biocine y North American Vaccines²³.

Vacunas frente al meningococo serogrupo B

Al ser el polisacárido capsular del meningococo B poco inmu-nógeno²⁴, tener la misma estructura de ácido polisialico que algu-

nos oligosacáridos presentes en células humanas²⁵, y debido a que el epítipo de la cápsula capaz de generar una respuesta inmune puede inestabilizarse bajo condiciones fisiológicas o patológicas²⁶ se han desarrollado, por una parte, vacunas en las que se utilizan como antígenos las proteínas externas de membrana, como se verá más adelante, y por otra, se ha estudiado la respuesta inmune humoral y celular en humanos tras el padecimiento de la enfermedad meningocócica en un intento de aplicar estos conocimientos al desarrollo de una vacuna eficaz frente al serogrupo B.

La respuesta inmune humoral está claramente condicionada por la edad de padecimiento de la enfermedad invasora. Pollar et al²⁷ han enfrentado sueros de convalescentes de enfermedad por serogrupo B o C con seis capas de meningococo B, provenientes todas ellas de una cepa madre en la que por técnicas de ADN recombinante se ha sustituido la porina A original (gen que codifica la síntesis de la proteína externa de membrana clase 1), por otra que exprese una porina A distinta²⁸ al objeto de medir actividad bactericida sérica, IgG total y subclases e IgM. Comprobaron cómo la actividad bactericida sérica del suero de convalescentes menores de doce meses es nula y cómo aumenta a medida que se incrementa la edad del padecimiento, para todas las cepas, sin diferencias en el grupo de mayor edad entre los convalescentes de enfermedad originada por el serogrupo B o C. Asimismo, observan que los niveles de IgG total, IgG1 e IgG3 aumentan y son similares independientemente de la edad del padecimiento, pero no aumentan los de IgG2, IgG4 e IgM, y que el nivel de IgG total frente a la cepa madre era el mismo independientemente de haber padecido enfermedad por serogrupo B o C. Las conclusiones de este estudio se pueden sintetizar en los siguientes puntos: a) la actividad bactericida sérica del suero de convalescentes no está relacionada con padecimiento por uno u otro serogrupo y sí con el serosubtipo que puede compartir epítipes entre ambos serogrupos, y b) los anticuerpos IgG tras infección van dirigidos frente a epítipes no capsulares.

Estos mismos autores²⁹ han estudiado también la respuesta celular tras la infección natural por meningococo siguiendo una estrategia similar a la descrita con anterioridad. Esta respuesta la miden con la proliferación de las células sanguíneas periféricas mononucleadas y con la síntesis de citocinas en suero de convalescentes al enfrentarlos a cepas vesiculadas de meningococo con distinta composición de antígenos procedentes de proteínas externas de membrana. La proliferación fue similar independientemente de la edad y del padecimiento por meningococo serogrupo B o C, y la respuesta de citocinas se diferenciaba según la edad de padecimiento, de tal manera que a menor edad mayor valor del índice interleuquina 10 (IL-10)/interferón gamma (IFN- γ), lo que implica que en niños pequeños el balance de la producción de citocinas se desvía hacia una respuesta Th1 (respuesta citolítica) y en niños mayores a una Th2 (respuesta de anticuerpos y de subclases que fijan complemento). Las respuestas proliferativas no variaban dependiendo del tipo de cepas al que se enfrentaban, por lo que dedujeron que las vesículas de proteína de membrana externa presentan más epítipes de células T que una proteína individual purificada. Los autores concluyen, a la vista de los dos trabajos anteriores, que la clave para desarrollar una vacuna puede venir de la comprensión de los mecanismos inmunológicos por los que un antígeno potencialmente vacunal induce la síntesis de anticuerpos de alta especificidad y de alta afinidad, bien sea mediante la estimulación de los linfocitos T

TABLA 1
Antígenos candidatos a formar parte de la vacuna antimeningocócica B*

Antígeno	Tipificación	Heterogeneidad	Mimetismo	Acs. bactericidas
Polisacárido cap.	Serogrupo	-	+	-
OMP clase 1 (PorA)	Serosubtipo	++	-	+++
OMP clase 2/3 (PorB)	Serotipo	++	-	+
OMP clase 4	-	-	-	-
OMP clase 5	-	++	-	+++
Opc**	-	-	-	+++
Pili	-	++	-	++
Lipoproteína H.8	-	-	-	-
IRP***	-	+	-	++
Lipopolisacárido	Inmunotipo	+	+	-

*Tomado de ³⁰. **Proteína C de opacidad (miembro de OMP clase 5). ***Proteínas reguladoras de hierro.

helper (respuesta humoral) o por secreción de citocinas que estimulan la elaboración de anticuerpos (respuesta celular).

A la vista de la estructura de la bacteria, los antígenos candidatos a formar parte de una vacuna antimeningocócica B se expresan en la tabla 1.

Las vacunas frente al meningococo serogrupo B utilizadas hasta ahora son básicamente de dos tipos, e incluyen como inmunógeno proteínas de membrana, ya que los intentos de conjugar el polisacárido capsular del meningococo B al toxoide tetánico o a otras proteínas no han dado buenos resultados^{31,32}. Una de ellas es la sintetizada por el *National Institute of Public Health* de Oslo, que contiene un complejo de proteínas de membrana externa (clase 1, clase 3 y clase 5) y lipopolisacáridos del serogrupo B, extraído con desoxicolato para obtener microvesículas, aluminio y tiomersal³³, y la otra es una bivalente preparada por el Instituto Finlay de La Habana, que contiene polisacárido del meningococo C y una mezcla de proteínas de membrana externa de alto peso molecular con lipopolisacáridos y fosfolípidos del serogrupo B e hidróxido de aluminio³⁴, comercializada en 20 países (VAMENOC B-C^{TM}) y de la que se han utilizado aproximadamente diez millones de dosis¹³. Ambas son poco reactógenas.

La vacuna preparada en Noruega (B:15:P1.7,16) se administró en régimen de dos dosis con seis semanas de intervalo entre 1989 y 1991 en escolares de 14 a 16 años y con seguimiento de 17 a 29 meses, estimándose la efectividad en un 57,2%³³, siendo mayor en el primer año tras la vacunación, y teniendo en cuenta que el 80% de los aislamientos de meningococo previos a la vacunación correspondían a ese mismo serogrupo, serotipo y serosubtipo. La vacuna cubana (B:4:P1.15) se ensayó durante el año 1990 en Río de Janeiro, donde se administraron dos dosis de vacunas separadas dos meses a 1,6 millones de niños de seis meses a nueve años con seguimiento durante un año, donde el 38% de los aislamientos de meningococo en la temporada 1989/1990 eran del mismo serogrupo, serotipo y serosubtipo que la vacuna³⁴. La efectividad en el total de edades frente al serogrupo C o B confirmados por cultivo o detección antigénica fue del 24% y del 54%, respectivamente. Al desglosar la efectividad por grupos de edades (tabla 2), fue más baja en los menores de cuatro años y variaba según la definición de caso. La protección fue mayor en los primeros seis meses tras la vacunación.

TABLA 2
Efectividad de las vacunas antimeningocócicas frente al serogrupo B

País	Fecha	Tipo estudio	N.º dosis	Efectividad (%) ^a	IC 95%
Noruega	1989/1991	Ensayo clínico	2		
14-16 años				57,2	(27,-)
Río de Janeiro	1990/1991	Casos y controles	2		
6-23 meses				41	(-96,82)
24-47 meses				14	(-165,72)
≥ 48 meses				71	(34,87)
Sao Paulo	1989/1990	Casos y controles	2		
< 24 meses				5	(< -100,83)
24-47 meses				53	(-79,88)
≥ 48 meses				73	(2,93)
Iquique	1987/1989	Ensayo clínico	2		
1-4 años				-23	(< -100,73)
5-21 años				69	(14,91)

^aCasos confirmados por cultivo o detección antigénica.

En Sao Paulo³⁵, durante 1989 y 1990, se administró la vacuna producida en Cuba (B:4:P1.15) a 2,4 millones de niños de tres meses a seis años. La efectividad por aislamiento bacteriano o por detección antigénica se expresa en la tabla 2, y es de destacar que la efectividad no mejoraba cuando se circunscribía el análisis a la cepa vacunal. Por otra parte, del 51% de las cepas aisladas que se tipificaron completamente tanto en casos como en controles eran idénticas a la cepa vacunal.

Una vacuna experimental, producida por el *Walter Reed Army Institute of Research*, basada también en proteína externa de membrana (B:15:P1.3:L3,7), purificada a partir de una cepa que circulaba en Iquique (Chile), unida no covalentemente al polisacárido capsular C, no vesiculada, con bajo contenido en lipopolisacárido y sin OMP clase 5, se probó en aquella zona con un diseño de ensayo clínico en población de 1 a 21 años y en régimen de dos dosis en seis semanas con un período de seguimiento de 30 meses³⁶. La efectividad global fue del 51%, sin protección para menores de 4 años y del 70% para el de 5 a 21 años, con menos casos en los primeros meses de seguimiento. La efectividad se correlacionó con la actividad bactericida del suero.

Recientemente, Tappero et al³⁷, basándose en que la actividad bactericida sérica pudiera ser probablemente un buen marcador serológico subrogado de protección clínica^{36,38}, en un ensayo clínico han estudiado la inmunogenicidad de la vacuna cubana (B:4:P1.15) y noruega (B:15:P1.7,16) en Chile, donde circulaba una cepa distinta (B:15:P1.3) a las anteriores. Se inocularon tres dosis de una u otra vacuna, separadas dos meses, a tres grupos de niños con edades medias de 4,1 meses, 3 años y 23,3 años, y midieron la actividad bactericida sérica en los vacunados frente a cepas homólogas o heterólogas. Observaron cómo la respuesta a cepas heterólogas no era excesivamente buena en niños y adultos y negativa en lactantes, pero excelente (sobrepasando el 96% de sujetos con actividad bactericida) para los tres grupos de edad frente a la cepa homóloga, y comprobaron también que el antígeno inmunodominante responsable de la actividad bactericida era la proteína externa de membrana clase 1. Los autores y una editorial acompañante³⁹ concluyen que debido a que las epidemias por meningococo del serogrupo B tienen larga duración en el tiempo, a que la proteína clase 1 tiene una clara relación con la aparición de anticuerpos bactericidas y a que un limitado número de estas proteínas representan más de las tres cuartas partes de las aisladas en las endemias del meningococo

del serogrupo B, una buena vía para la prevención sería la secuenciación, en las fases iniciales de las epidemias y tal como se hace actualmente con la vacuna de la gripe, del ADN de las porinas A (codifican las proteínas clase 1) de las cepas representativas para elaborar una vacuna multivalente de proteínas clase 1.

Cartwright et al, en otro artículo reciente⁴⁰, estudiaron la inmunogenicidad y reatogenicidad en lactantes de 2 meses de Gloucester (Reino Unido), de una vacuna hexavalente, en régimen de tres dosis en el primer año (2, 3 y 4 meses) con recuerdo en el segundo año de vida, y las compararon con un grupo control al que se le administra la vacuna antimeningocócica B en el segundo año de vida. La vacuna fue desarrollada por el *Laboratory for Clinical Vaccine Research* de Biltoven (Holanda), y se componía de dos microvesículas conteniendo cada una de ellas una cepa vacunal, manipulada por tecnología de ADN recombinante, expresando cada una de ellas tres porinas A y, por tanto, dos epitopes o regiones variables que provocan síntesis de anticuerpos. No contenía polisacárido capsular ni porina B y sí pequeñas cantidades de proteína externa clase 4 y 5. Por tanto, inocularon una vacuna cuyas seis porinas A representaban más del 80% de todos los aislamientos, independientemente del serogrupo, durante 1996 en aquel país, y midieron la actividad bactericida sérica de los vacunados frente a seis cepas de meningococo que expresaban cada una de ellas una porina A similar a cada una de las representadas en la vacuna, y frente a una cepa de meningococo C que tenía un serotipo relacionado antigénicamente con dos de las cepas vacunales.

Al margen de ser bien tolerada, en éste y en otros estudios en escolares⁴¹, los investigadores encontraron que tras tres dosis el 90% de los niños tenían títulos bactericidas considerados como protectores (≥ 1:4) frente a dos cepas B inmunodominantes (uno en cada vesícula), y el 50% frente a las otras cuatro B y frente a la cepa C. Asimismo, los títulos decayeron antes de la cuarta dosis, pero tras esta última solamente un 5% de los sujetos no alcanzaron niveles protectores frente a todas las cepas, lo que sugirió aparición de memoria inmunológica durante la primovacunación.

Por último, una vacuna vesiculada de membrana externa de meningococo B que contenga altas concentraciones relativas de lipooligosacárido, administrada intranasalmente en adultos, se ha mostrado poco reactógena y ha inducido a la aparición de anticuerpos bactericidas, algunos frente a cepas heterólogas, dirigidos fundamentalmente frente a la porina A y a los lipooligosacáridos⁴².

Conclusiones

La profilaxis activa frente a los dos serogrupos de *Neisseria meningitidis* más frecuentemente implicados en la génesis de la enfermedad meningocócica en los países occidentales se encuentra actualmente en una situación muy favorable en lo que respecta al serogrupo C, debido fundamentalmente a la aparición de vacunas capsulares conjugadas con proteínas transportadoras, que en breve se van a introducir en calendarios vacunales sistemáticos. No tan favorable es la situación en lo concerniente al serogrupo B, aunque las experiencias recientes que se han expuesto con anterioridad y que van encaminadas a la identificación de los epitopes de las proteínas externas de membrana, fundamentalmente la de la clase 1, de las cepas circulantes representativas en un momento dado en la comunidad, eliminan pequeños obstáculos en el difícil camino de la prevención de la enfermedad meningocócica originada por el serogrupo B.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Control of epidemic meningococcal disease. WHO practical guidelines (2.^a ed). Ginebra: World Health Organization, 1998.
2. Racoonin J, Whiteny C, Conover C, Diaz P. Serogroup Y meningococcal disease in Chicago, 1991-1997. *JAMA* 1998; 280:2.094-2.098.
3. PHLS Meningococcal Infections Working Group and Public Health Medicine Environmental Group. Control of meningococcal disease: guidance for consultants in communicable disease control. *CDR Review* 1995; 5:R189-R195.
4. Malvar Pintos A. Evaluación de la campaña de vacunación de la enfermedad meningocócica en Galicia. Metodología empleada, ventajas e inconvenientes. Estudio de portadores. *Rev Esp Salud Pública* 1998; 72:393-400.
5. Merlin M, Debonne JM, Nicolás P, Bailly C, Yazipo D, Bougère J, et al. Contrôle d'une épidémie de méningite à meningocoque en Afrique centrale. *Cahiers Santé* 1996; 6:87-95.
6. Peltola H, Mäkelä H, Käity H, Jousimies H, Herva E, Hällström K, et al. Clinical efficacy of meningococcus group A capsular polysaccharide vaccine in children three months to five years of age. *N Engl J Med* 1977; 297:686-691.
7. De Wals P, Dionne M, Douville-Fradet M, Boulianne N, Drapeau J, De Serres G. Impact of a mass immunization campaign against serogroup C meningococcus in the Province of Quebec, Canada. *Bull World Health Organ* 1996; 74:407-411.
8. Kriz P, Vlckova J, Bobak M. Targeted vaccination with meningococcal polysaccharide vaccine in the district of the Czech Republic. *Epidemiol Infect* 1995; 115:411-418.
9. Rosenstein N, Levine O, Taylor J, Evans D, Pilkaytis B, Wenger J, et al. Efficacy of meningococcal vaccine and barriers to vaccination. *JAMA* 1998; 279:435-439.
10. Biselli R, Fattorossi A, Matricardi P, Nisini R, Stroffolini T, Dámelio R. Dramatic reduction of meningococcal meningitis among military recruits in Italy after introduction of specific vaccination. *Vaccine* 1993; 11:578-581.
11. Pearce M, Sheridan J, Jones D, Lawrence G, Murphy D, Masutti B, et al. Control of group C meningococcal disease in Australian Aboriginal children by mass chemoprophylaxis and vaccination. *Lancet* 1995; 346:20-23.
12. Masterton R, Youngs E, Wardle J. Control of an outbreak of group C meningococcal meningitis with a polysaccharide vaccine. *J Infect Dis* 1988; 17:177-182.
13. Peltola H. Meningococcal vaccines. Current status and future possibilities. *Drugs* 1998; 55:347-366.
14. Twumasi P, Kumah S, Leach A, O'Dempsey T, Ceesay S, Todd J, et al. A trial of a group A plus group C meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccine in African infants. *J Infect Dis* 1995; 171:632-638.
15. Fairley Ch, Begg N, Borrow R, Fox A, Jones D, Cartwright K. Conjugate meningococcal serogroup A and C vaccine: reactogenicity and immunogenicity in United Kingdom infants. *J Infect Dis* 1996; 174:1.360-1.363.
16. Lieberman J, Chiu S, Wong V, Partridge S, Ju Chang S, Yin Chiu Ch, et al. Safety and immunogenicity of a serogroups A/C *Neisseria meningitidis* oligosaccharide-protein conjugate vaccine in young children. *JAMA* 1996; 275:1.499-1.503.
17. Leach A, Twumasi P, Kumah S, Banya W, Jaffar S, Forrest B, et al. Induction of immunologic memory in Gambian children by vaccination in infancy with a group A plus group C meningococcal polysaccharide-protein conjugate vaccine. *J Infect Dis* 1997; 175:200-204.
18. Anderson E, Bowers T, Mink Ch, Kennedy D, Belshe R, Harakeh H, et al. Safety and immunogenicity of meningococcal A and C polysaccharide conjugate vaccine in adults. *Infect Immun* 1994; 62:3.391-3.395.
19. Granoff D, Gupta R, Belshe R, Anderson E. Induction of immunologic refractoriness in adults by meningococcal C polysaccharide vaccination. *J Infect Dis* 1998; 178:870-874.
20. Richmond P, Borrow R, Miller E, Clark S, Sadler F, Fox A, et al. Meningococcal serogroup C conjugate vaccine is immunogenic in infancy and primes for memory. *J Infect Dis* 1999; 179:1.569-1.572.
21. Richmond P, Borrow P, Clark S, Findlow J, Morris R, Cartwright K. Meningococcal C-tetanus toxoid conjugate vaccine is immunogenic and induces memory in infants. En: Abstract book of the 17th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Disease. May 19-21, 1999. Greece: Heraklion, 1999; 29.
22. MacLennan J, English M, Bowen-Morris J, Boardman M, Brown K, Blackstock A, et al. A double blind, randomised, controlled trial of a meningococcal group C conjugate vaccine in British infants. En: Abstract book of the 17th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Disease. May 19-21, 1999. Greece: Heraklion, 1999; 29.
23. Chief Medical Officer, Chief Nursing Officer, Chief Pharmaceutical Officer. Introduction of immunisation against group C meningococcal infection. London: Department of Health, 1999 (PL/CMO/99/2, PL/CNO/99/4, PL//CPHO/99/1).
24. Wyle F, Artenstein M, Brandt B, Tramont E, Kasper D, Alteiri P. Immunologic response of man to group B polysaccharide vaccines. *J Infect Dis* 1972; 126:514-522.
25. Finne J, Leinonen M, Mäkelä P. Antigenic similarities between brain components and bacteria causing meningitis. Implications for vaccine development and pathogenesis. *Lancet* 1983; ii:355-357.
26. Division of Microbiology and Infectious Diseases. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. The Jordan Report 98. Accelerated development of vaccines. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland.
27. Pollard A, Galassini R, Roupe Van der Voort E, Booy R, Langford P, Nadel S, et al. Humoral immune responses to *Neisseria meningitidis* in children. *Infect Immun* 1999; 67:2.441-2.451.
28. Peeters C, Rümke H, Sundermann L, Rouppe van der Voort E, Meulenbelt J, Schuller M. Phase I clinical trial with a hexavalent PorA containing meningococcal outer membrane vesicle vaccine. *Vaccine* 1996; 14:1.000-1.015.
29. Pollard A, Galassini R, Roupe van der Voort E, Hibberd M, Booy R, Langford P, et al. Cellular immune responses to *Neisseria meningitidis* in children. *Infect Immun* 1999; 67:2.452-2.463.
30. Herbert M, Heath P, Mayon-White R. Meningococcal vaccines for the United Kingdom. *Communicable Disease Report* 1995; 5:R130-R134.
31. Frasch M, Zahradnik J, Wang L, Moca L, Tsai C. Antibody response of adults to an aluminium hydroxide-adsorbed *Neisseria meningitidis* serotype 2b protein-group B polysaccharide vaccine. *J Infect Dis* 1988; 158:710-718.
32. Lifely M, Roberts S, Shepperd W, Esdaille J, Wang S, Cleverly A, et al. Immunogenicity in adult males of a *Neisseria meningitidis* group B vaccine composed of polysaccharide complexed with outer membrane proteins. *Vaccine* 1991; 9:60-66.
33. Bjune G, Hoiby E, Gronnesby J, Arnesen O, Fredriksen J, Hlastent A, et al. Effect of outer membrane vesicle vaccine against group B meningococcal disease in Norway. *Lancet* 1991; 338:1.093-1.096.
34. Noronha C, Struchiner C, Halloran E. Assessment of the direct effectiveness of BC meningococcal vaccine in Rio de Janeiro, Brazil: a case-control study. *Int J Epidemiol* 1995; 24:1.050-1.057.
35. Cassio de Moraes J, Perkins B, Camargo M, Hidalgo N, Barbosa H, Tavares C, et al. Protective efficacy of a serogroup B meningococcal vaccine in Sao Paulo, Brazil. *Lancet* 1992; 340:1.074-1.078.
36. Boslego J, Garcia J, Cruz C, Zollinger W, Brandt B, Ruiz S, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of a meningococcal group B (15:P1.3) outer membrane protein vaccine in Iquique, Chile. *Vaccine* 1995; 13:821-829.
37. Tappero J, Lagos R, Maldonado A, Plikaytis B, Williams D, Dykes J, et al. Immunogenicity of 2 serogroups B outer-membrane protein meningococcal vaccines. A randomized controlled trial in Chile. *JAMA* 1999; 281:1.520-1.527.
38. Milagres L, Ramos S, Sacchi C, Melles C, Vieira V, Sato H, et al. Immune response of Brazilian children to a *Neisseria meningitidis* serogroup B outer membrane protein vaccine. Comparison with efficacy. *Infect Immun* 1994; 62:4.419-4.424.
39. Wenger J. Serogroup B meningococcal disease. New outbreaks, new strategies. *JAMA* 1999; 281:1.541-1.543.
40. Cartwright K, Morris R, Rümke H, Fox A, Borrow P, Begg N, et al. Immunogenicity and reactogenicity in UK infants of a novel meningococcal vesicle containing multiple class 1 (Por A) outer membrane proteins. *Vaccine* 1999; 17:2.612-2.619.
41. De Kleijn E, De Groot R, Van Omme G, Wala M, Van Alphen L, Rümke H, et al. Safety and immunogenicity of a hexavalent OMV vaccine in children. En: Abstract book of the 16th Annual Meeting of the European Society for Pediatric Infectious Diseases. May 27-29, 1998. Slovenia: Bled, 1998; 48.
42. Drabick J, Brandt B, Moran E, Saunders N, Shoemaker D, Zollinger W. Safety and immunogenicity testing of an intranasal group B meningococcal native outer membrane vesicle vaccine in healthy volunteers. *Vaccine* 1999; 18:160-172.