



"V Jornada del Programa de Vacunaciones"

Murcia, 14 de Mayo, 2010

Vacunas frente a *N meningitidis*
serogrupo B

José A. Navarro Alonso
Servicio de Prevención
Consejería de Sanidad
Región de Murcia

josea.navarro2@carm.es



INDICE

- Epidemiología
- Estructura de *N meningitidis*
- Vacunas capsulares
- Vacunas subcapsulares: recombinantes y Vacunología inversa
- Conclusiones



Epidemiología de la infección meningocócica

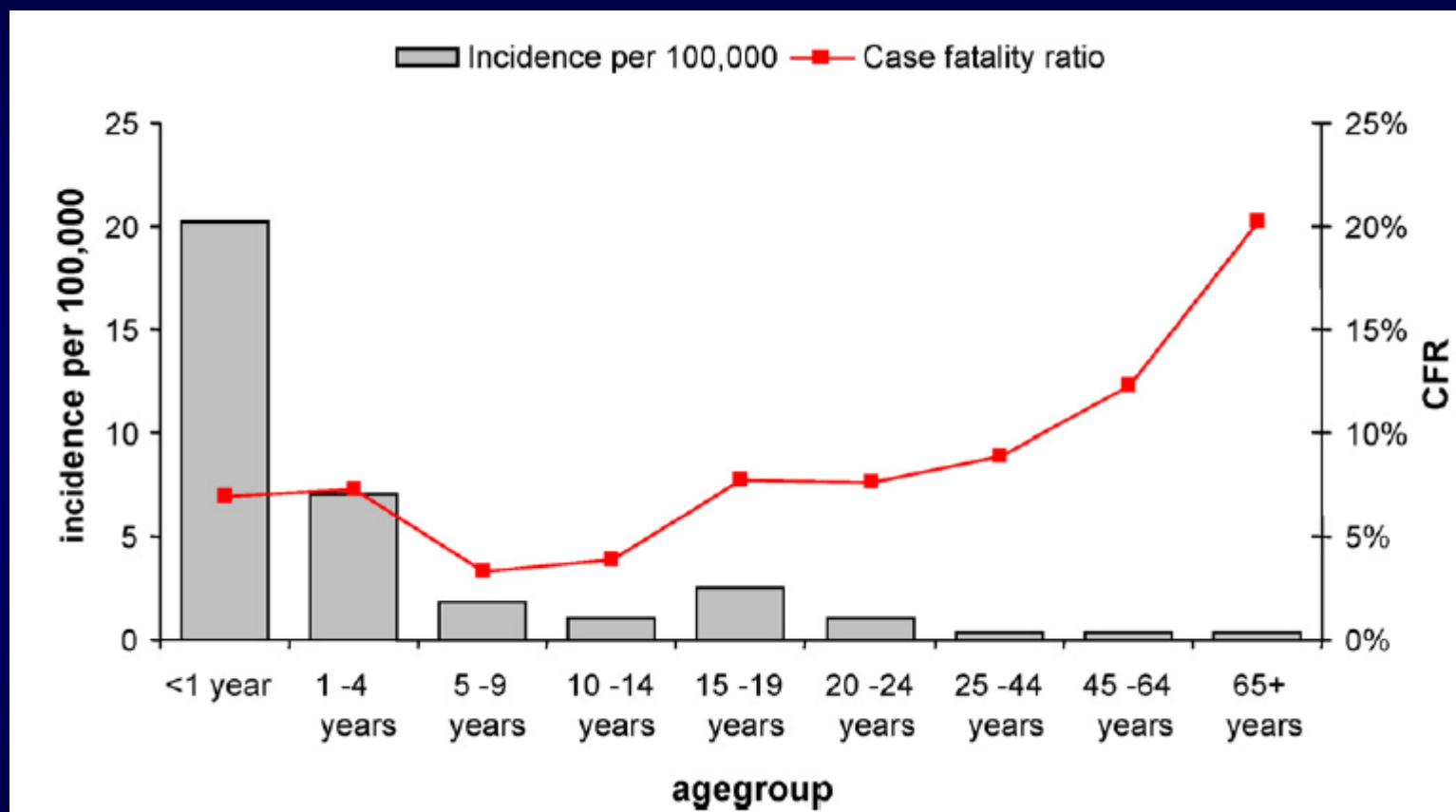


Distribución mundial de serogrupos de meningococo



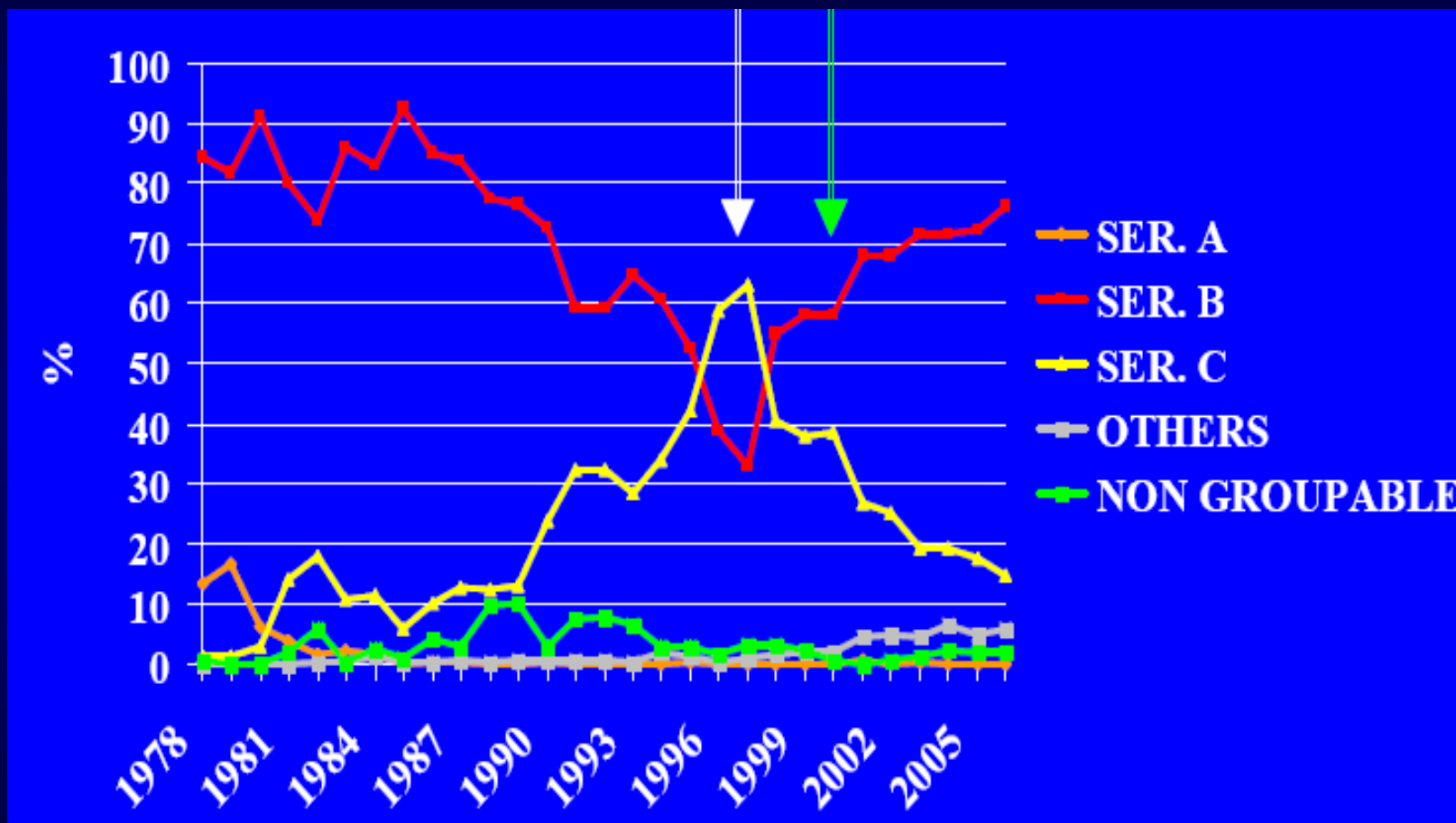


Incidencia y letalidad de la enfermedad meningocócica por edad Europa, 2006



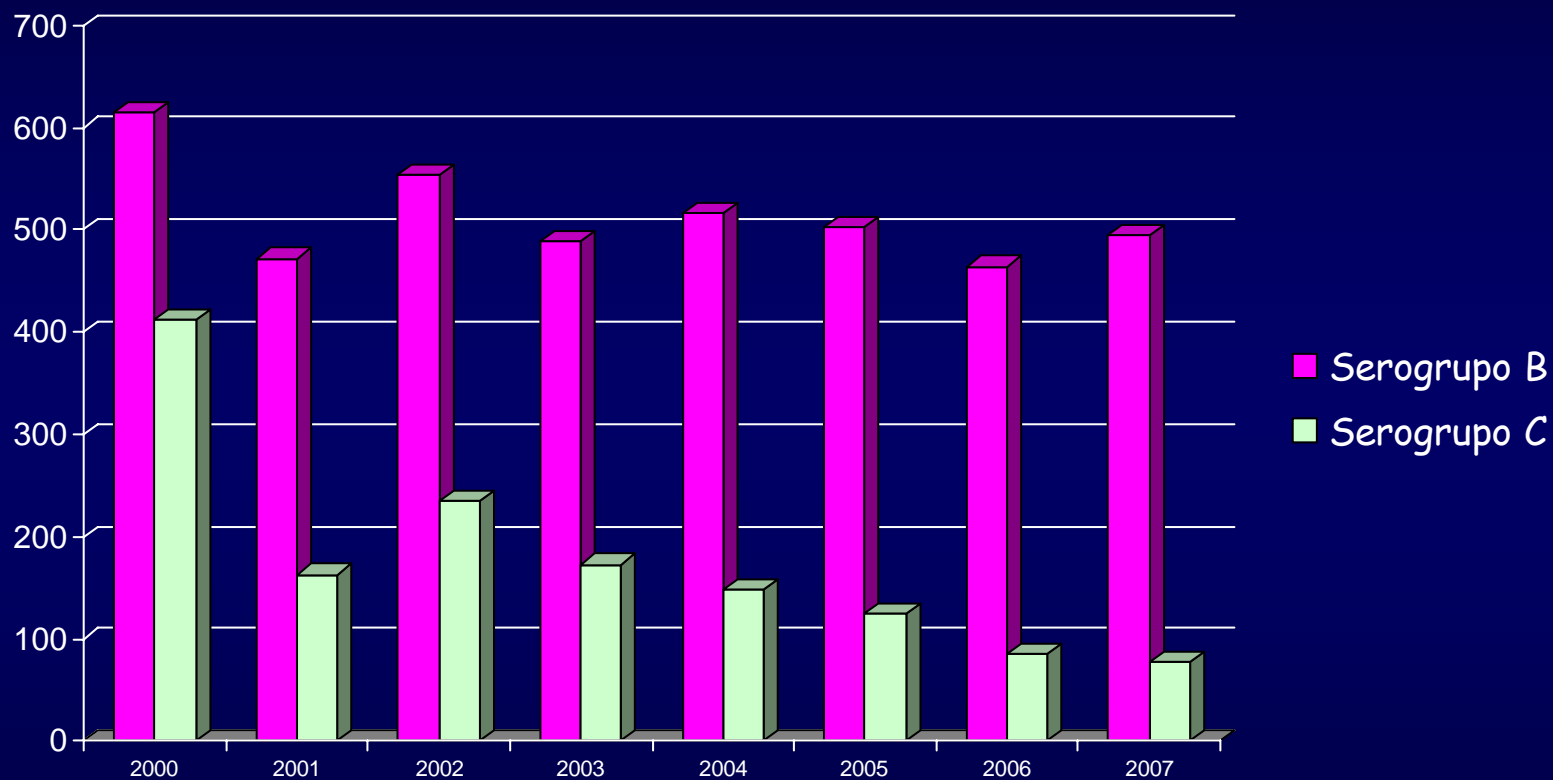


Enfermedad meningocócica en España, 1978-2006





Enfermedad meningocócica en España, 1999-2007





Patrones epidemiológicos de enfermedad meningocócica causada por serogrupo B

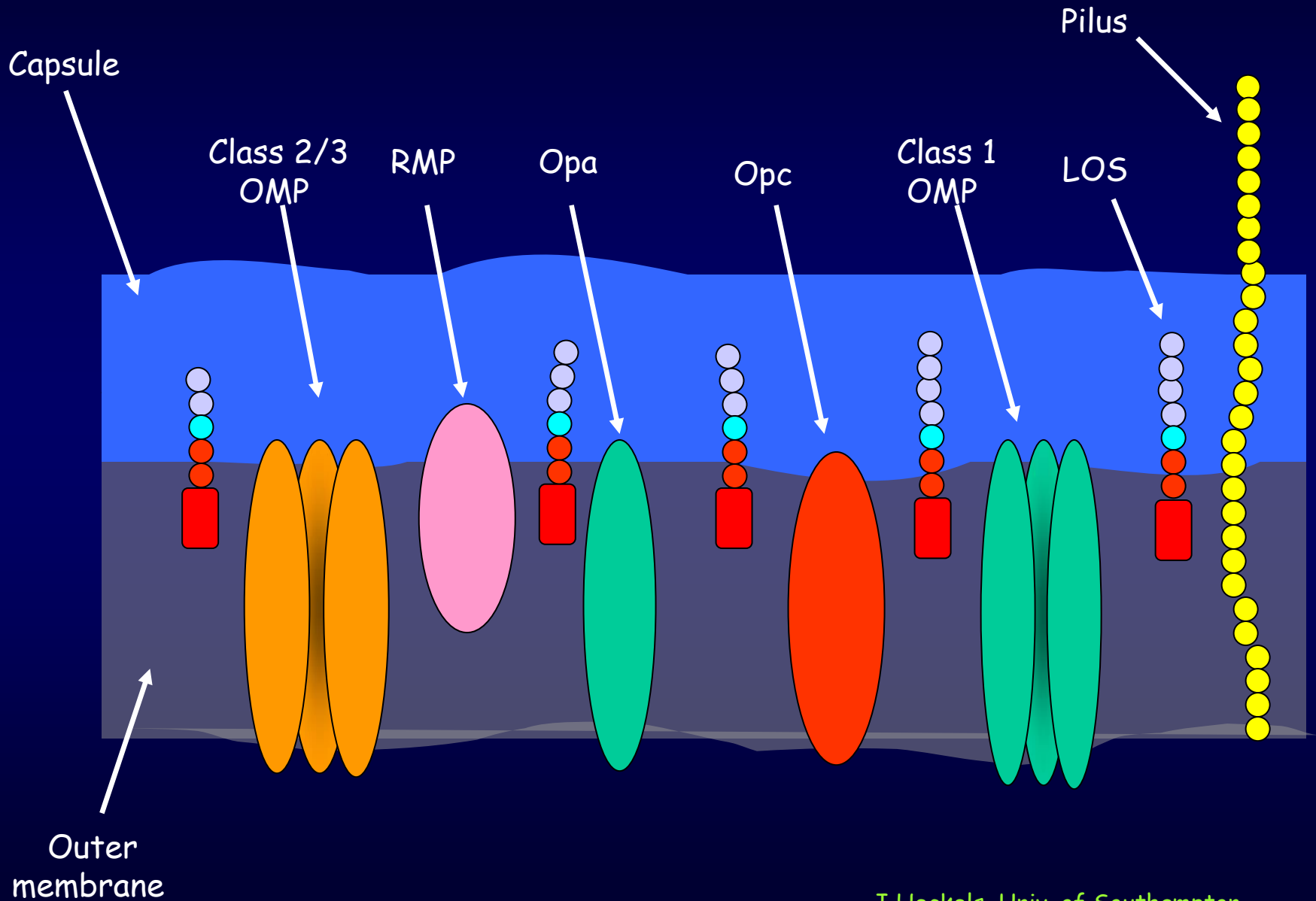
- Enfermedad endémica causada por amplia variedad de cepas
- Brotes epidémicos con un único clon como responsable



Estructura de *Neisseria meningitidis*



Cápsula y membrana externa





Caracterización de *N meningitidis* (perfil antigénico)

B:4:P1,7b,4

Cápsula
polisacárida

Porina B

Porina A

Proteína externa clase
2 ó 3

Proteína externa clase 1

Serogrupo

Serotipo

Serosubtipo

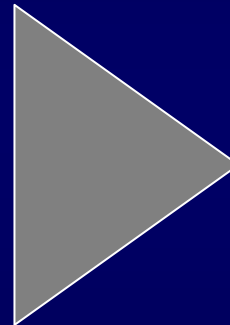


Vacunas candidatas

Vacunas antimeningocócicas B candidatas

Capsulares

- Polisacárida simple
- Poli u oligosacáridos conjugados
- Polisacáridos modificados



- IgM (no bactericidas)
- Autoinmunidad

No capsulares



Vacunas subcapsulares



Fundamentos

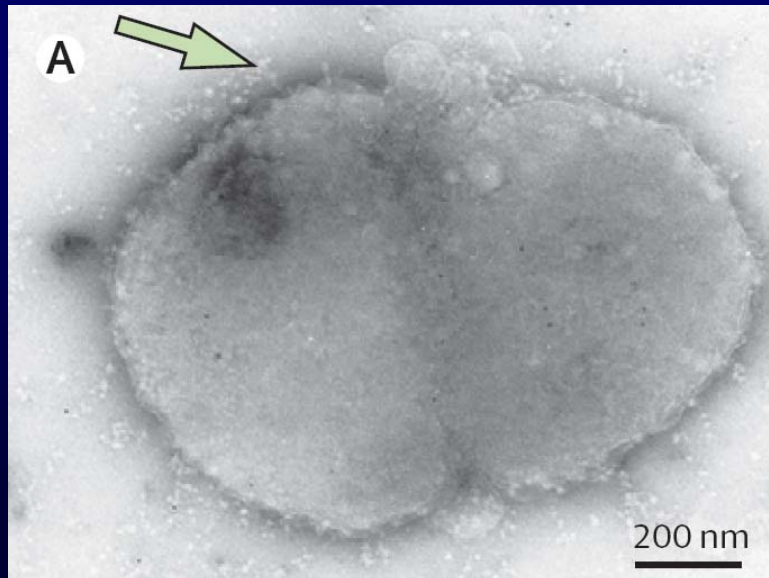
Tras la colonización o infección por *N meningitidis* serogrupo B se producen anticuerpos bactericidas séricos frente a proteínas de membrana externa

Jackson C et al. *Arch Dis Child* 2009;94:745-751



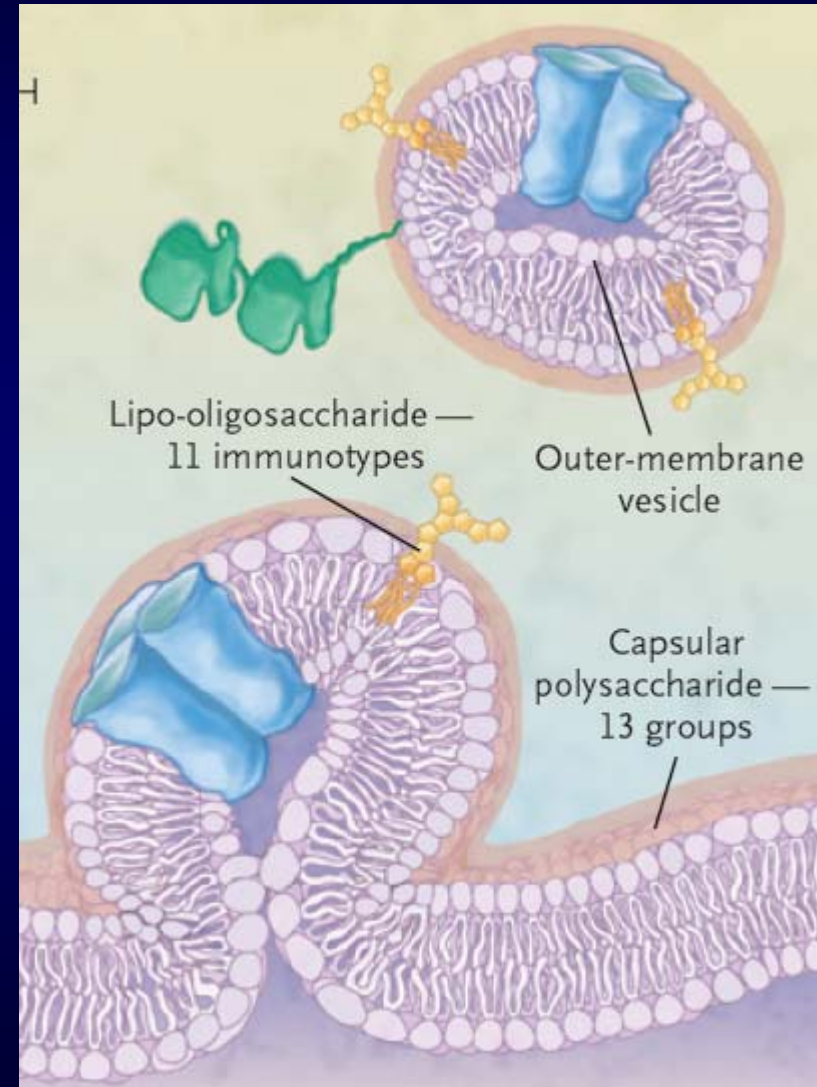
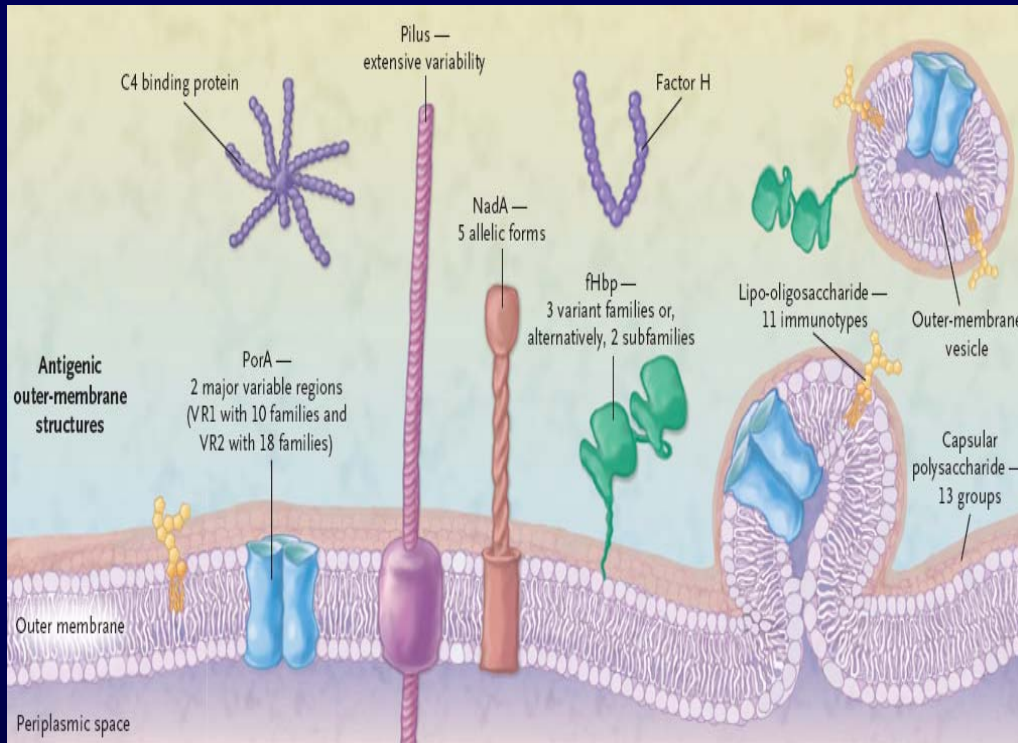
Vesículas

- Se producen naturalmente durante su crecimiento en laboratorio o en humanos y se excretan en el ambiente que rodea al meningococo
- Son una porción de la membrana externa que contienen proteínas, lipoproteínas y lipopolisacáridos
- Se presentan múltiples antígenos al sistema inmune en su estado nativo, aunque el dominante es la PorA





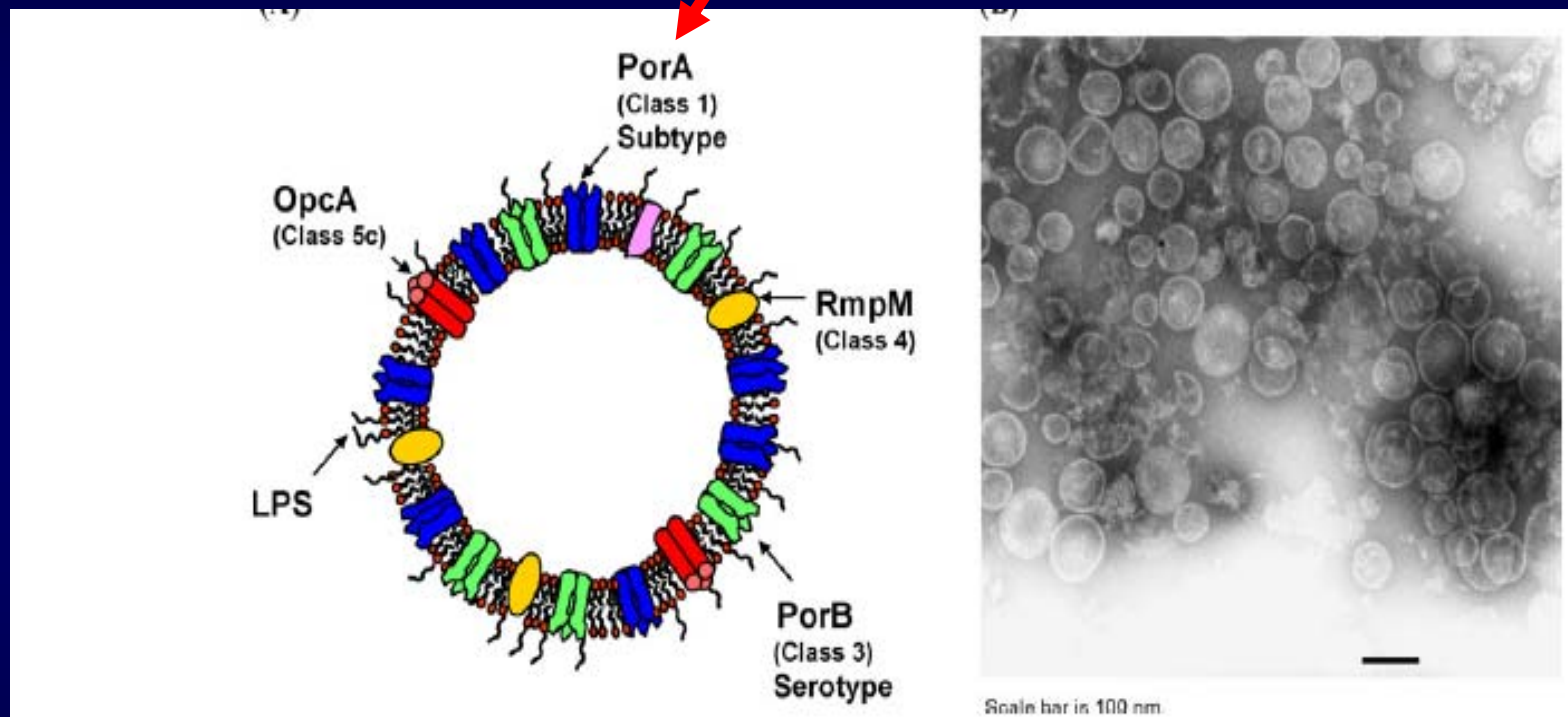
Vesículas





Vacunas de proteína de
membrana externa monovalente
OMVV

Representación de una vacuna de vesículas conteniendo proteínas de membrana externa



Se preparan de cultivos de meningococo

Se retiran parte de los lipopolisacáridos de la membrana externa mediante detergente, se elimina este último y se solubilizan las proteínas en vesículas







Vacuna del Instituto Carlos Finlay (Vamengoc-BC)

- Vesículas purificadas de proteína de membrana externa de meningococo serogrupo B: 50 μ g (B:4:P1.19,15)
- Polisacárido capsular purificado de meningococo serogrupo C como adyuvante: 50 μ g
- Timerosal: 0.05 mgs
- Sales de fosfato: 0.05 mgs
- Cloruro sódico: 4.25 mgs
- Agua: 0.5 cc
- Gel de Al (OH₃)



Efectividad de las vacunas OMV

	Year	Age group	Vaccine	Estimated efficacy
 Cuba	1987-89	10 - 14 years	4:P1.15+C	83%
 Brazil	1989-91	3 months - 6 years	4:P1.15+C	47-74%
 Norway	1989-91	11 - 16 years	15:P1.16	57%
 Chile	1987-89	1 - 21 years	15:P1.3+C	51%

Borrow R. <http://www.meningitis.org/health-professionals/2007-conference>



Limitaciones y ventajas

PROS

- 1ª vacuna que ha completado el desarrollo clínico y farmacéutico
- Unica vacuna comercialmente disponible
- Segura
- Efectiva en controlar epidemias. ¿Lactantes?
- Experiencia clínica masiva ($>45 \times 10^6$ dosis)
- ¿Mejora efectividad con 3 dosis?

CONTRAS

- Tasas bajas de protección en < 2 años frente a cepas homólogas y heterólogas
- Corta duración de la protección

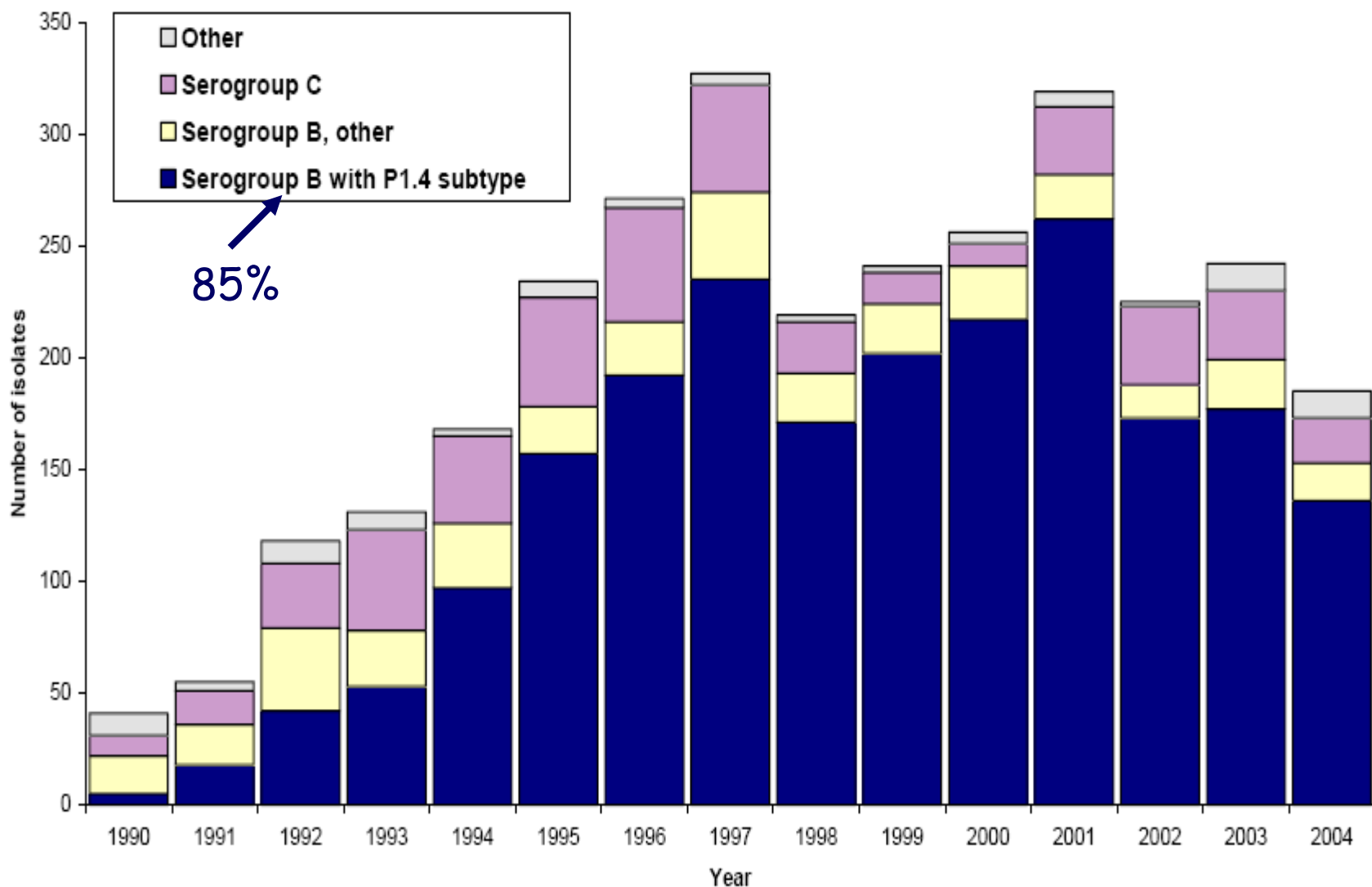


LA EPIDEMIA DE NUEVA ZELANDA

Una vacuna "hecha a medida"

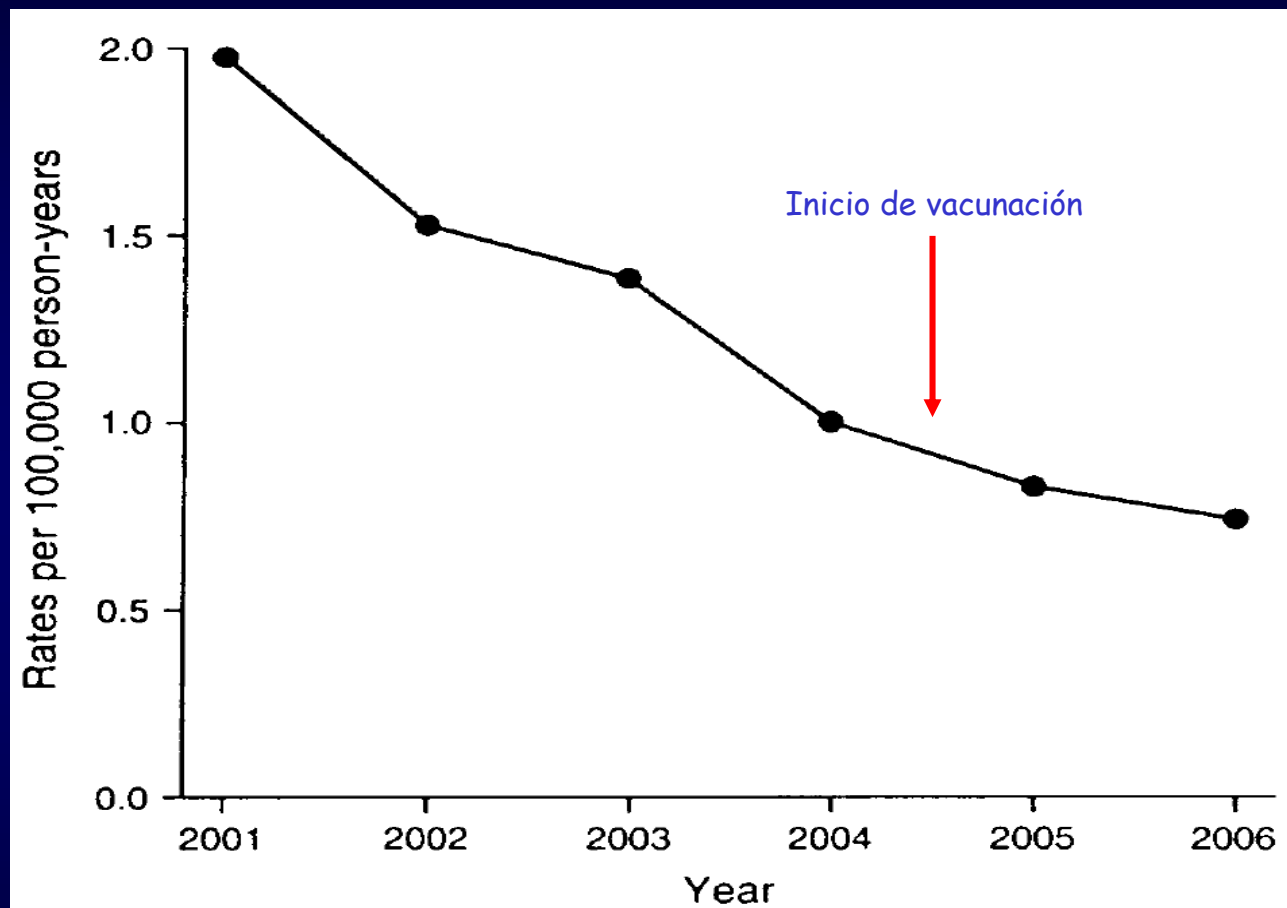


Epidemiología de la enfermedad meningocócica en Nueva Zelanda





Efectividad de la vacuna



- . Estudio prospectivo observacional entre 6 meses y 19 años y entre 2001 y 2006
- . Comparación tasa de incidencia entre vacunados y no vacunados en el periodo
- . La regresión logística múltiple permite el ajuste de factores de confusión, como la progresión natural de la enfermedad con el tiempo
- . Efectividad: 73% (IC 95%: 52-85). Tasa de enfermedad 3.7 veces más alta en no vacunados respecto a vacunados



Efectividad de la vacuna

Comparison groups	Age group	Number of vaccinated cases (person days at risk)	Number of unvaccinated cases (person days at risk)	Vaccine effectiveness (95% CI)
Vaccinated vs unvaccinated	6 months to <5 years	12 (101936906)	9 (15286382)	80.0% (52.5 to 91.6)
	6 months to <3 years	8 (56679206)	8 (8638364)	84.8% (59.4 to 94.3)
Partially vaccinated vs unvaccinated	6 months to <5 years	7 (41104849)	9 (15286382)	71.1% (22.3 to 89.2)
	6 months to <3 years	6 (22669957)	8 (8638364)	71.4% (17.6 to 90.1)

. Efectividad calculada mediante estudio de cohortes en 24 meses tras la vacunación

. NO efectividad en ninguna edad a los 13-24 meses tras tercera dosis

. Se desconoce efectividad en menores de 6 meses (donde mayores tasas de enfermedad)



Cese de la vacunación: Abril 2008

- Diseño para proteger a corto-medio plazo
- Diseño para altas coberturas
- Protección decreciendo, especialmente en los que se vacunaron en lactancia
- Compatibilidad con antineumocócica conjugada

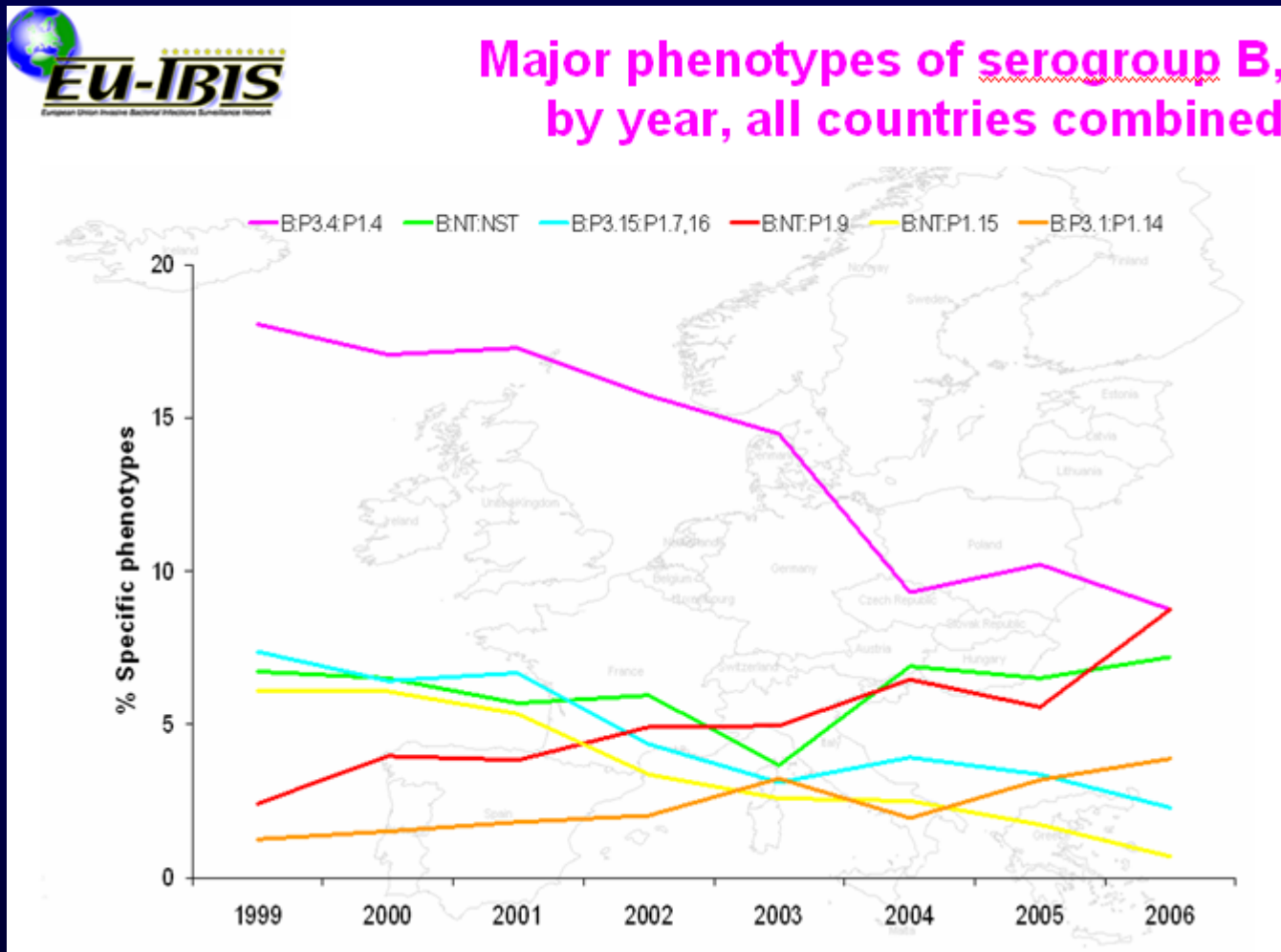
Loring B et al. *Vaccine* 2008;47:5899-5904



¿Experiencia aplicable a Europa?

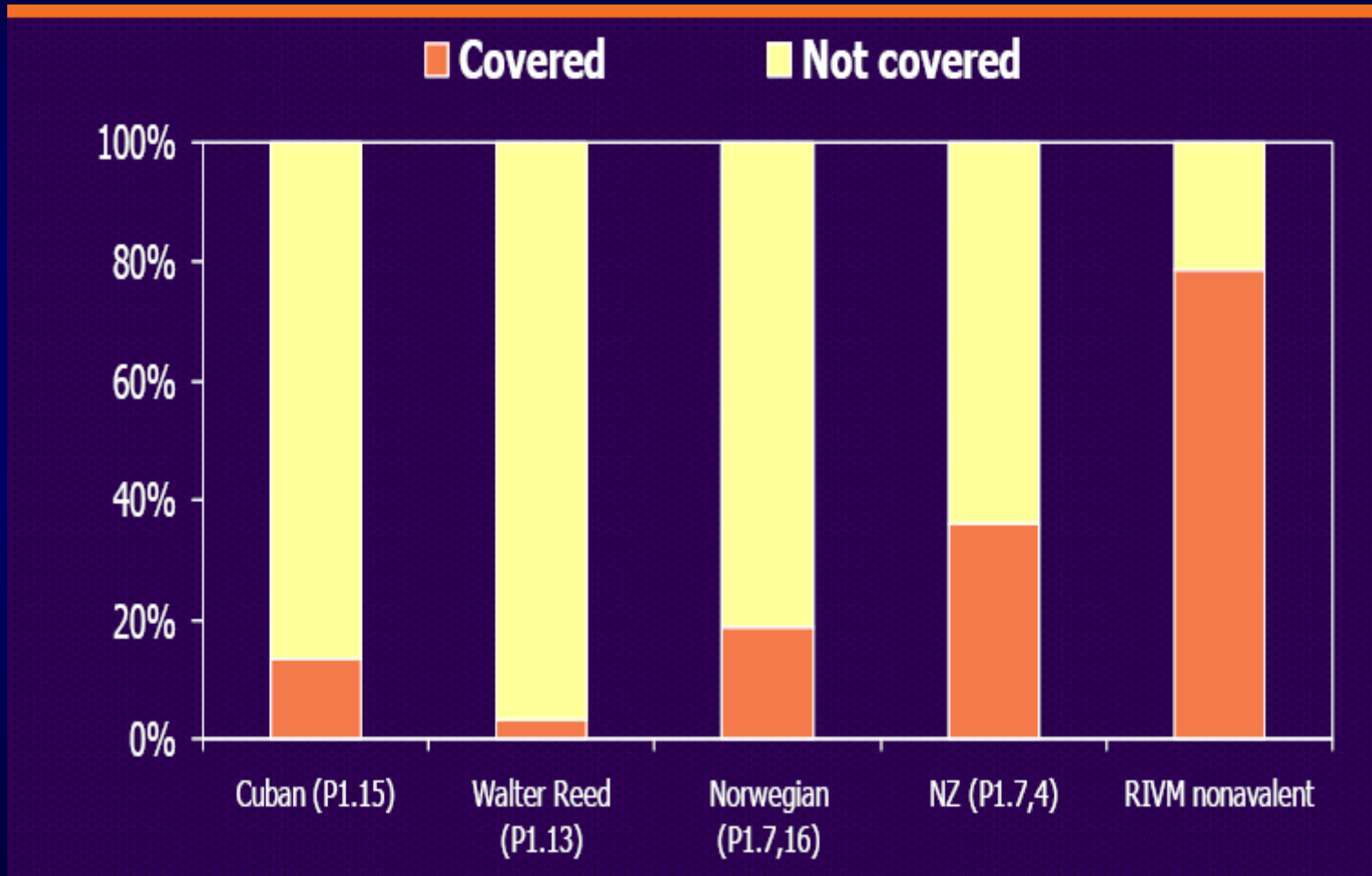


Serotipos y serosubtipos de *Neisseria meningitidis* serogrupo B prevalentes en Europa (1999/2006)





Cobertura potencial máxima de las vacunas OMV frente a meningococo B en Europa (1999/2006)

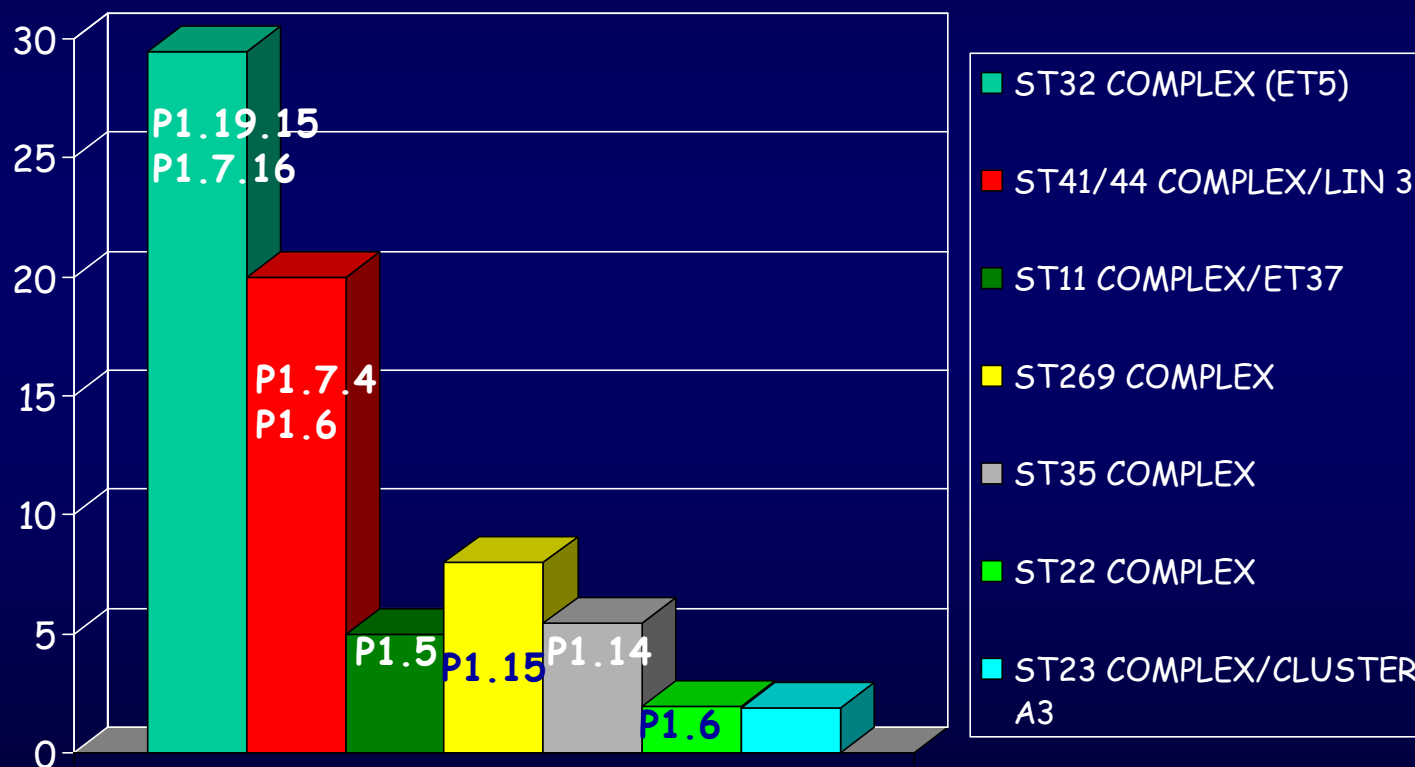




¿Experiencia aplicable a España?



Líneas clonales de meningococo serogrupo B en España, 2000-2005



Vamengoc-BC : B:4:P1.19,15
MeNZB : B:4:P1.7b,4



Conclusiones

- Complejidad y tiempo en la producción
- Fabricación "a medida" y en respuesta a situación crítica
- Resultados prometedores para controlar el brote por cepa homóloga (Nueva Zelanda) o relacionada (Dieppe)
- Las cepas epidémicas cambian poco en el tiempo (10-20 años) \Rightarrow validez durante largo tiempo

Factibilidad en España

- Heterogeneidad de serosubtipos
- Incidencia contenida en España



Limitaciones de las vacunas actuales

Capsulares

- . Poco inmunógenas
- . Riesgo de autoinmunidad

No capsulares

- . Variabilidad antigénica (600 PorA)
- . Protección solo frente a homólogas
- . Escasa protección en pequeños
- . Precisan de varias dosis con escasa aceptación parental
- . Inmunidad poco duradera
- . Cambios en calendario rutinario y compatibilidad con resto vacunas si se introducen sistemáticamente



Vacunas del futuro



Vacunas recombinantes de proteínas
de membrana externa (**OMVV recombinantes**)



National Institute of Public Health (Holanda), Hexamen-Nonamen™

- . Mediante técnicas de ADN recombinante se insertan en cepas de *N meningitidis* (HP16215, HP10124, HP1416) genes que codifican OMP clase 1
- . 3 genes por cepa de *Neisseria*
- . Aislamiento del complejo proteico de membrana
- . Presentación en forma de dos-tres OMV

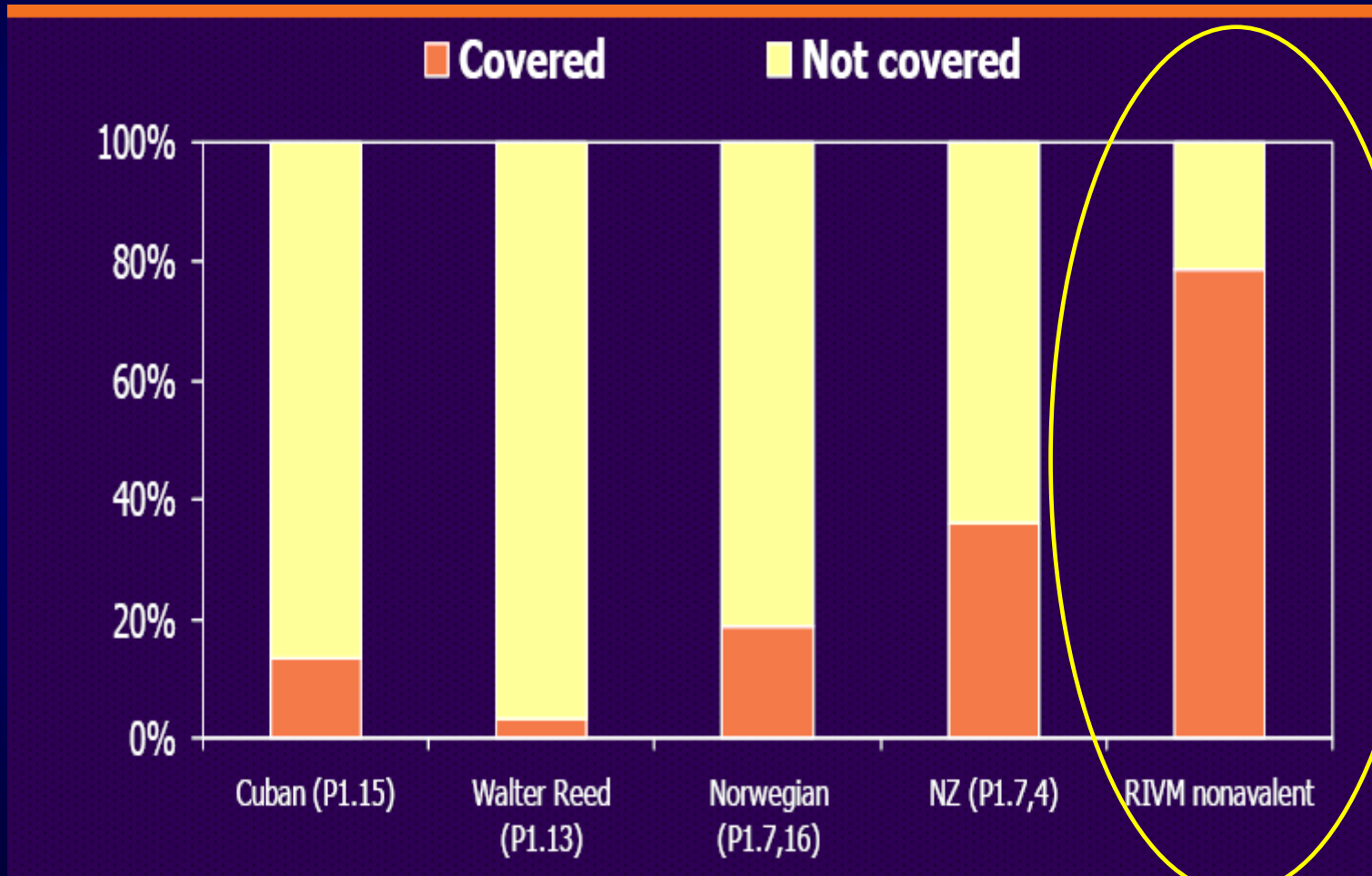
Contiene 90% de OMP clase 1, OMP clase 4 (7%), OMP clase 5 (3%) y LPS, pero carece de OMP clase 2/3 y de cápsula

Ensayos en Reino Unido (lactantes con 4 dosis) y en Holanda (2º año y escolares, con 3 dosis)

Inicio en 2009 de ensayos fase I (Nonamen)



Cobertura potencial máxima de las vacunas OMV frente a meningococo B en Europa (1999/2006)





Vacunas recombinantes de lipoproteínas de superficie externa



Proteínas-lipoproteínas no estructurales, abundantes o no, secretadas o expresadas en la superficie bacteriana en procesos invasivos

Criado MT et al. *Enf Infecc Microbiol Clin* 2008;28:564-572



Vacuna rLP 2086, fHBP (Pfizer)

- Identificada mediante fraccionamiento bioquímico de una membrana externa soluble
- Patogenicidad mediante la unión con el factor H del complemento inhibiendo la activación de la vía alternativa
- Clonada utilizando secuencia génica de aislamientos de *Neisseria* y posterior expresión y purificación en *E coli* mediante técnicas recombinantes
- Las cepas de *N meningitidis* se subdividen en subfamilias A y B según la secuencia de aminoácidos de LP2086. Identidad a.a. entre ellas del 60%-75% de aminoácidos. En la misma familia mayor del 83%

Las subfamilias A y B también se conocen como: 2-3 y 1, respectivamente



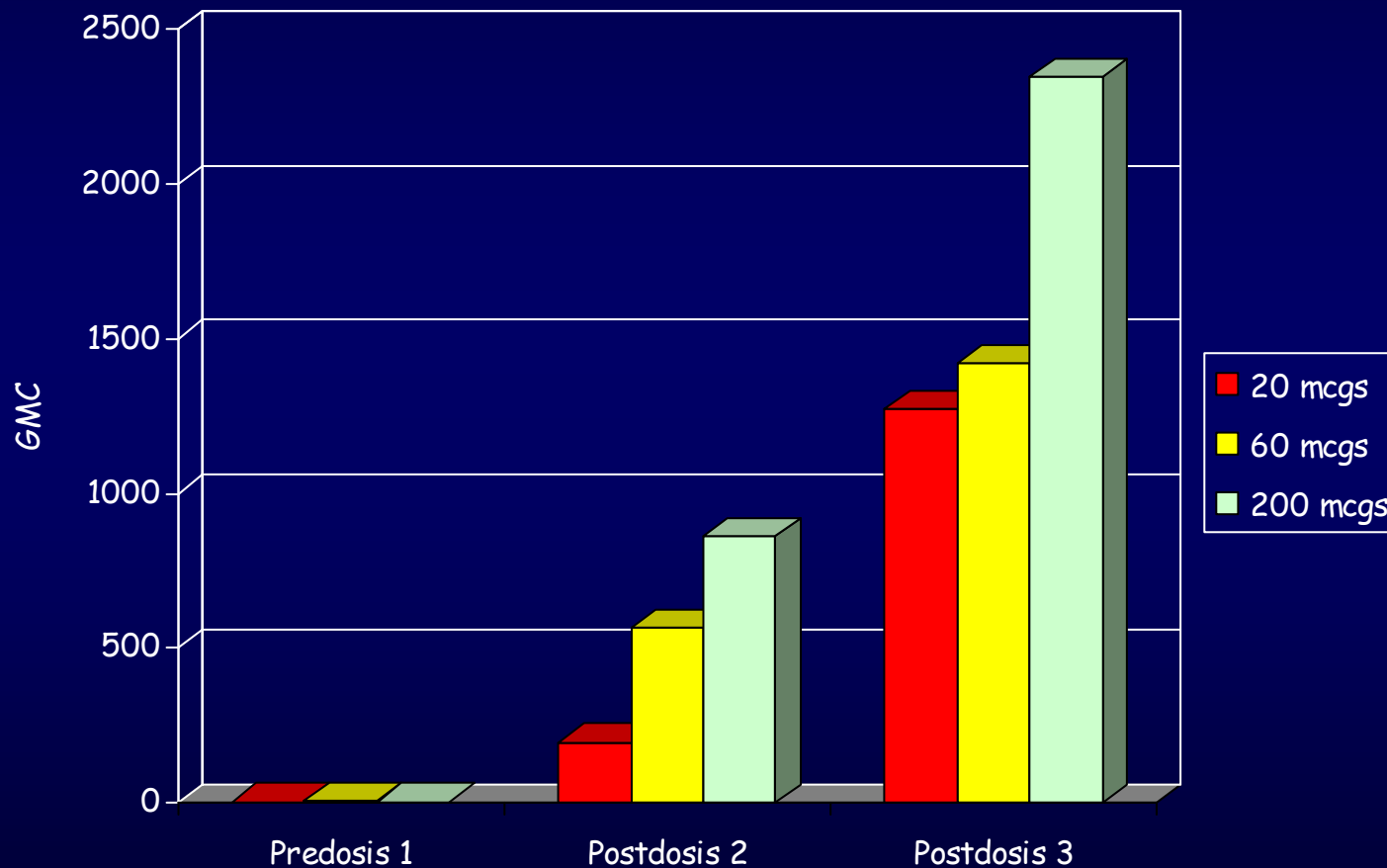
Vacuna rLP 2086 (Pfizer)

Country	No. of strains	Percentage in subfamily		Common variants, percentage of strains									
		A	B	B24	B16	B44	B03	B09	A22	A19	A12	A05	A07
Czech Republic	28	25.0	75.0	17.9	3.6	10.7	7.1	0	3.6	0	10.7	3.6	0
France	244	32.4	67.6	19.7	6.6	5.7	22.5	1.6	12.7	3.7	2.5	1.2	1.2
Norway	23	34.8	65.2	34.8	8.7	4.3	17.4	0	30.4	0	0	4.3	0
England, Wales, Northern Ireland	536	23.3	76.7	3.9	23.5	22.0	6.7	9.9	7.8	1.7	0.4	4.3	0.9
United States													
Including Oregon ^a	432	34.5	65.5	42.6	5.1	0.2	3.2	3.9	10.4	3.5	6.3	0.2	3.0
Not including Oregon ^a	291	45.0	55.0	29.2	6.5	0.3	4.8	4.5	12.7	4.5	8.6	0.3	4.5
Total	1263	29.1	70.9	21.1	13.2	10.8	8.8	5.8	10.0	2.6	3.0	2.3	1.7
South Africa	54	57.4	42.6	11.1	14.8	1.9	3.7	3.7	13.0	13.0	0	0	0



Vacuna rLP 2086 (Pfizer)

GMC's frente a rLP 2086 de la familia A en niños de 8 a 14 años





Vacunas de lipo-proteínas obtenidas por Vacunología inversa



Vacunología convencional

- Cultivo del microorganismo
- Aislamiento del antígeno relacionado con la patogenicidad
- Inactivación
- Purificación
- Inyección

!Estudia la respuesta inmune tras la enfermedad o tras la vacunación!



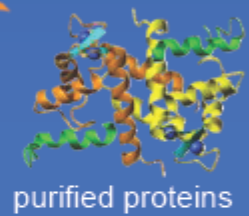
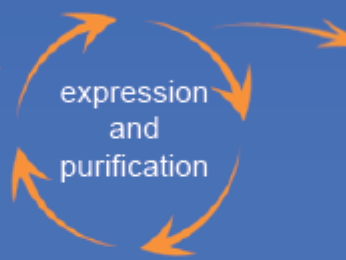
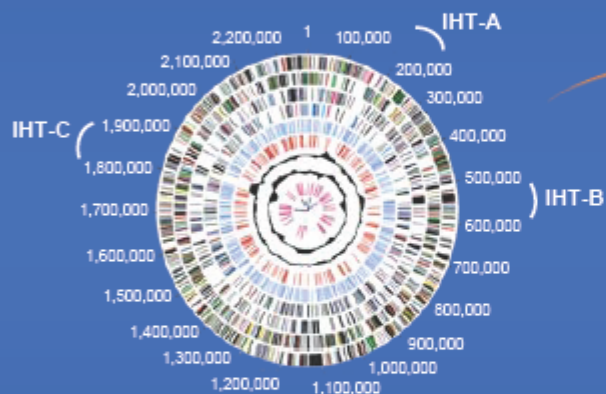
Vacunología inversa



Reverse Vaccinology Approach

Based on the genome sequence of MC58, 600 ORFs that potentially encoded novel surface exposed or exported proteins were identified

~350 proteins successfully expressed in *E. coli*, purified, and used to immunize mice



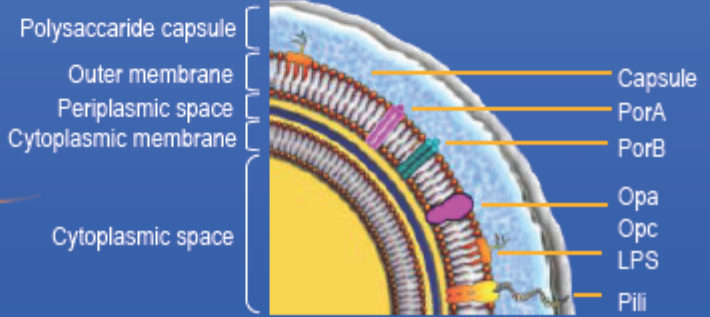
purified proteins



immunizations

91 novel surface-exposed proteins identified

28 novel protein antigens with bactericidal activity were identified



Identificaron 600 fragmentos de ADN que podrían potencialmente codificar antígenos de meningococo. De ellos, 350 fragmentos se expresaron satisfactoriamente en *E. coli*, se purificaron e inyectaron en ratones. Tras el estudio de los acs. generados, se comprobó que 91 de las proteínas inmunizantes correspondían a proteínas de superficie. 28 de ellas eran antígenos que producían anticuerpos bactericidas



Vacunología inversa

Identifica todas las proteínas que la bacteria puede expresar en cualquier momento de su ciclo vital

Criado MT et al. Enf Infecc Microbiol Clin 2008;28:564-572



Criterios para seleccionar antígenos de la vacuna MenB Novartis

- Expresados (expuestos o secretados) en la superficie bacteriana: prevalencia del gen
- Secuencia nucleótida del gen conservada entre amplia variedad de cepas de meningococos
- Inducción de anticuerpos bactericidas

Oster Ph. Comunicación personal

Serruto D et al. *Vaccine* 2009. doi:10.1016/j.vaccine.2009.01.072



Vacuna recombinante

Proteínas- polipéptidos de superficie seleccionadas

Factor H binding protein (fHBP, GNA 1870 o lipoproteína 2086 B)

- . El antígeno es esencial para la supervivencia del meningococo en el ser humano al inhibir la vía alternativa del complemento
- . Anclada a la membrana del meningococo
- . Único antígeno de la vacuna que ha demostrado inducción de Acs ABS en humanos. Familia B

NadA: Neisseria addition A

- . Polipéptido que promueve la adhesión bacteriana y la penetración en las células epiteliales
- . Los anticuerpos frente a ella pueden evitar la colonización
- . Presente en 50% de aislamientos de *N meningitidis* B
- . Se expresa "in vivo" y presente en suero de convalecientes

Lipoproteína GNA 2132 (NHBA)

- . Se une a la heparina con lo que la bacteria evita la activación del complemento
- . Expresada en la superficie del meningococo



Vacuna recombinante

Composición



MenB Vaccine Composition

Recombinant Proteins



fHBP 1.1



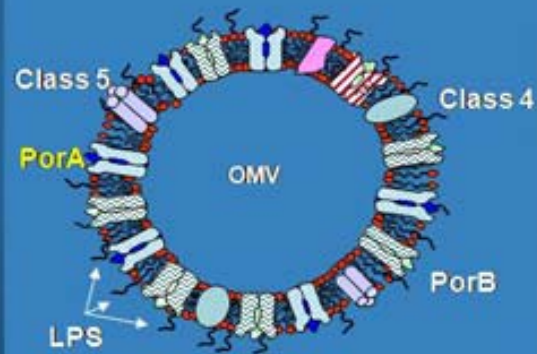
NadA



GNA 2132

+

Outer Membrane Vesicle (OMV) component (NZ PorA is P1.4)

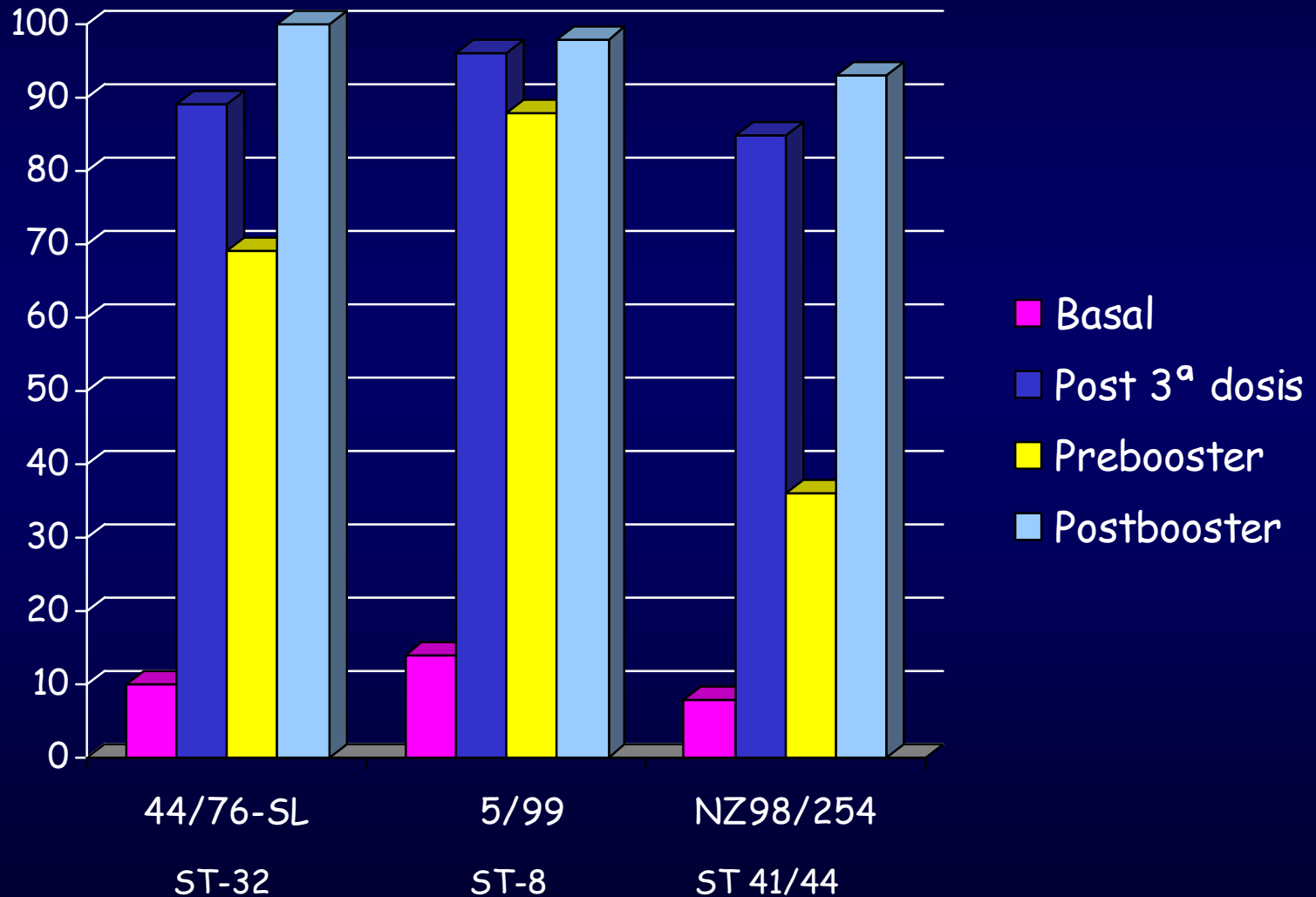




Novartis MenB

Ensayos clínicos fase II en niños

% de niños con títulos hSBA $\geq 1:4$ tras vacuna rMenB +OMV





Temas pendientes

- Comprobar proteínas expresadas por aislamientos españoles
- Comprobar si la presión selectiva tras la vacunación puede causar reducción en el número de aislamientos que expresen los antígenos de la vacuna, especialmente con las que utilizan un único antígeno
- Comprobar correlación anticuerpos ABS con protección clínica
 - . La autorización no se hará en base a protección por la baja incidencia de la enfermedad, sí en base a ABS
 - . ABS pueden infraestimar protección clínica
 - . Los ABS pueden no ser buen subrogado
- Reactogenicidad sistémica: fiebre (los antígenos interactúan con factores del huésped)
- Duración de la protección, nº de dosis, transporte nasofaríngeo y memoria inmune
- Decidir cuanta protección es suficiente para justificar el uso de la vacuna



Conclusiones

- Las técnicas recombinantes abren una nueva vía en la prevención de la enfermedad meningocócica por serogrupo B
- Perspectivas muy favorables para disponer de una vacuna universal frente a *N meningitidis* serogrupo B en unos años



m u c h a s g r a c i a s