

Limitaciones del ensayo bactericida en suero para la evaluación de vacunas contra meningococo B

Limitations of the serum bactericidal assay for the evaluation of meningococcal B vaccines

Rolando Felipe Ochoa-Azze*. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8008-2944>

Instituto Finlay de Vacunas, La Habana, Cuba.

email: ochoa@finlay.edu.cu

Las vacunas antimeningocócicas contra los serogrupos A, C, Y, W₁₃₅, X se basan en sus polisacáridos capsulares, estructura que les confiere resistencia a los mecanismos de defensa del hospedero mediados por el sistema del complemento.⁽¹⁾ El polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo B no ha podido ser empleado por su pobre inmunogenicidad, debido a su semejanza con el ácido siálico expresado en las moléculas de adhesión de las células neuronales. Por ello se han evaluado otros inmunógenos. Entre estos se destacan las vacunas basadas en vesículas de membrana externa (VME).^(2,3)

El ensayo bactericida en suero (EBS) es la “regla de oro” para evaluar la inmunogenicidad de vacunas antimeningocócicas. Se ha considerado como correlato de protección aquellos valores superiores o iguales a 1:8 para vacunas de polisacáridos, en especial cuando se usa complemento humano. Para vacunas contra meningococo B títulos de al menos 1:4.^(3,4)

Sin embargo, el EBS subestima el grado de protección contra meningococo B.^(2,3) Hay que tener en cuenta que este ensayo fue diseñado para evaluar la lisis celular mediada por la activación de la vía clásica del complemento; útil en contextos de estructuras con epitopos repetitivos y espacialmente asequibles, lo que si bien es evidente en cápsulas de polisacáridos, no lo es para VME. Considero que esta extrapolación no es adecuada. Por otra parte, otros mecanismos de protección no han sido tenidos en cuenta.

VA-MENGOC-BC[®] es una vacuna antimeningocócica basada en VME. La cepa vacunal B:4:P1.19,15 fue seleccionada teniendo en cuenta la expresión de antígenos conservados con reactividad cruzada. Además, esta vacuna incluye polisacárido capsular de meningococo C. Su efectividad contra cepas homólogas y heterólogas de meningococo B ha sido elevada en todos los grupos

Meningococcal vaccines against serogroups A, C, Y, W₁₃₅, X are based on capsular polysaccharides. This structure confer resistance to host complement-mediated attack mechanisms.⁽¹⁾ The capsular polysaccharide of *Neisseria meningitidis* serogroup B has not been used. It is poorly immunogenic, because it is similar to polysialic acid expressed on host neural cell adhesion molecule. For that reason, other immunogens have been evaluated. These include vaccines based on outer membrane vesicles (OMV).^(2,3)

The serum bactericidal assay (SBA) is the “gold standard” to evaluate the immunogenicity of meningococcal vaccines. The immune correlate of protection against serogroup B has been defined as bactericidal titers $\geq 1:4$; and $\geq 1:8$ for serogroup C, especially when human complement is used.^(3,4)

However, the SBA underestimate the protection level against serogroup B.^(2,3) We have to take into account that the SBA was developed to evaluate cellular lysis by activation of complement classical pathway. This assay is useful when outer repetitive epitopes are evaluated, as capsular polysaccharides. Nevertheless, the outer membrane epitopes have different characteristics. I believe that this extrapolation is not appropriated. On the other hand, other protective mechanisms are not considered.

VA-MENGOC-BC[®] is a meningococcal vaccine based on OMV. The vaccine strain B:4:P1.19,15 was selected because it expresses conserved cross-reactive antigens. In addition, this vaccine includes meningococcal serogroup C capsular polysaccharide. Its high clinical effectiveness against homologous and heterologous serogroup B strains has been demonstrated in all age

* Médico Especialista en Inmunología, Doctor en Ciencias Médicas, Investigador Titular, Profesor Titular MD with specialization in Immunology, PhD in Medical Sciences, Senior Researcher, Full Professor.

de edad. Sin embargo, los títulos bactericidas han sido inferiores que la efectividad clínica.^(2,3,5)

Deberían valorarse otros mecanismos de protección inducidos por VA-MENGOC-BC®: respuesta mediada por células T (patrón Th1), estimulación de neutrófilos (¿respuesta Th17?), así como otras células fagocíticas, opsonofagocitosis mediada por anticuerpos, interferencia con el metabolismo bacteriano e inducción de inmunidad de mucosa; los cuales pudieran ser más importantes que la lisis mediada por anticuerpos y complemento.^(3,6) Probablemente, otras vacunas contra meningococo B basadas en VME compartan algunos de estos mecanismos de protección.

Lamentablemente, el EBS se ha mantenido como la “regla de oro” para la evaluación clínica de vacunas contra meningococo B, tanto para estudios Fase II de inmunogenicidad, como para estimar la eficacia serológica.

Bexsero® es una vacuna contra meningococo B desarrollada mediante vacunología reversa. Incluye las proteínas recombinantes NadA, fHbp y NHBA, combinados con VME de la cepa B:4:P1.4. Sin embargo, se han reportado bajos títulos bactericidas;^(7,8) por lo tanto, se ha propuesto un Sistema de Tipaje de Antígenos Meningocócicos, “MATS” (por sus siglas en inglés “Meningococcal Antigen Typing System”), basado en ensayos diseñados para estimar la expresión de proteínas presentes en Bexsero® en cepas de meningococo. La premisa de este sistema es estimar la susceptibilidad de cepas a la vacuna.^(8,9) Sin embargo, este enfoque es cuestionable, ya que en modo alguno se evalúa la inmunogenicidad y mucho menos la protección inducida por la vacuna.

Se han valorado otras pruebas. Entre ellas, el ensayo bactericida en sangre total (EST), el cual se basa en la evaluación de la supervivencia/muerte de meningococos en la sangre total de individuos vacunados. Este ensayo ha demostrado ser más sensible que el EBS, probablemente debido a que el EBS detecta solamente la actividad bactericida de los anticuerpos en presencia de complemento exógeno, y el EST combina la actividad bactericida mediada por anticuerpos con el complemento endógeno, así como los componentes celulares de la respuesta inmune.⁽¹⁰⁾ Sin embargo, el EST es un ensayo complejo; las muestras de sangre no se pueden almacenar, deben ser procesadas en las primeras 2 h, y no se puede analizar un gran número de muestras.

Los ensayos inmunoenzimáticos no funcionales tipo ELISA son relativamente sencillos y permiten procesar un gran número de muestras, lo que los distingue del

groups. However, SBA titers has been lower than effectiveness based on clinical endpoints.^(2,3,5)

Other protective mechanisms elicited by VA-MENGOC-BC® should be considered: T-cell mediated responses (Th1 pattern), stimulation of neutrophils (Th17 pattern?) and other phagocytic cells, antibody opsonophagocytosis, interference with bacterial metabolism and mucosal immunity. These mechanisms could be more important than antibody-dependent complement mediated lysis.^(3,6) Probably, other meningococcal B vaccines based on OMV have some of these protective mechanisms too.

Unfortunately, The SBA has maintained the rank of “gold standard” to the clinical evaluation of meningococcal B vaccines that includes Phase II immunogenicity studies and the evaluation of serological efficacy.

Bexsero® is a meningococcal B vaccine developed by reverse vaccinology. It contains the recombinant proteins NadA, fHbp and NHBA, combined with OMV of the B:4:P1.4 strain. However, low bactericidal titers have been detected.^(7,8) Then, a Meningococcal Antigen Typing System (MATS) has been suggested, based on assays designed to assess vaccine strain coverage. The argument of this system is to assess the susceptibility of strains, according to vaccine composition.^(8,9) However, this strategy is doubtful, because neither vaccine immunogenicity nor vaccine protection are evaluated.

Other assays have been analyzed. The whole blood bactericidal assay (WBA) is based on the survival/killing of meningococci in whole blood of vaccinated individuals. This assay has proved to be more sensitive than SBA. This increased sensitivity may be because the SBA detects only the activity of bactericidal antibody in the presence of exogenous complement. In contrast the WBA combines bactericidal antibody with endogenous complement and the cellular components of the immune response.⁽¹⁰⁾ However, the WBA is a relatively complex test. Blood samples cannot be stored, they must be tested within 2 h of collection, and a large number of samples cannot be tested.

The non-functional enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) are relatively simple, and they can evaluate a large number of samples, which distinguishes them from the SBA. On the other hand, specific ELISAs have correlated with clinical efficacy, better than SBA in clinical trials of VA-MENGOC-BC® vaccine.⁽¹¹⁾ However, ELISAs are only considered complementary tests for the evaluation of meningococcal B vaccines.

EBS. Por otra parte, en los estudios clínicos de VA-MENGOC-BC® han demostrado una mayor correlación con la eficacia clínica que el EBS.⁽¹¹⁾ No obstante, se consideran tan solo una prueba complementaria para la evaluación de vacunas contra meningococo B.

Desde mi punto de vista, el EBS no es la mejor herramienta analítica para evaluar la inmunogenicidad y protección inducida por vacunas contra meningococo B. Deberían considerarse los ELISAs de avididad y pruebas funcionales que permitan evaluar los diferentes mecanismos inmunes de protección inducidos por estas vacunas. De igual forma, pudiera perfeccionarse el EST. No obstante, queda mucho por estudiar.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis* serogrupo B; vacunas antimeningocócicas; vesículas de membrana externa; ensayo bactericida en suero.

Conflicto de intereses

El autor no declara conflicto de intereses.

Referencias/References

1. Bai X, Borrow R, Bukovski S, Caugant DA, Culic D, Delic S, et al. Prevention and control of meningococcal disease: Updates from the Global Meningococcal Initiative in Eastern Europe. *J Infect* 2019;79:528-41.
2. Sierra-González VG. Cuban Meningococcal Vaccine VA-MENGOC-BC:30 Years of Use and Future Potential. *MEDICC Rev* 2019;21(4):19-27.
3. Ochoa-Azze RF, García-Imia L, Vérez-Bencomo V. Effectiveness of a Serogroup B and C Meningococcal Vaccine Developed in Cuba. *MEDICC Rev* 2018;20(3):22-9.
4. McIntosh ED, Bröker M, Wassil J, Welsch JA, Borrow R. Serum bactericidal antibody assays - The role of complement in infection and immunity. *Vaccine* 2015;33:4414-21.
5. Ochoa-Azze RF. Cross protection induced by VA-MENGOC-BC® vaccine. *Hum Vaccin Immunother* 2018;14(5):1064-8
6. Pérez O, Lastre M, Lapinet J, Bracho G, Díaz M, Zayas C, et al. Immune Response Induction and New Effector Mechanisms Possibly Involved in Protection Conferred by the Cuban Anti-Meningococcal BC Vaccine. *Infect Immun* 2001;69:4502-8.
7. Read RC, Dull P, Bai X, Nolan K, Findlow J, Bazar R, et al. A phase III observer-blind randomized, controlled study to evaluate the immune response and the correlation with nasopharyngeal carriage after immunization of university students with a quadrivalent meningococcal ACWY glycoconjugate or serogroup B meningococcal vaccine. *Vaccine* 2017;35:427-34.
8. Boccadifuoco G, Brunelli B, Mori E, Agnusdei M, Gianfaldoni C, Giuliani MM. Meningococcal Antigen Typing System (MATS): A Tool to Estimate Global Coverage for 4CMenB, a Multicomponent Meningococcal B Vaccine. *Methods Mol Biol* 2019;1969:205-15.
9. Donald RGK, Hawkins JC, Hao L, Liberator P, Jones TR, Harris SL, et al. Meningococcal serogroup B vaccines: Estimating breadth of coverage. *Hum Vaccin Immunother* 2017;13(2):1-11.
10. Morley S, Cole M, Ison C, Camaraza MA, Sotolongo F, Anwar N, et al. Immunogenicity of a serogroup B meningococcal vaccine against multiple *Neisseria meningitidis* strains in infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:1054-61.
11. Sotolongo-Padrón F, Campa-Huergo C, Casanueva-Gil V, Fajardo-Díaz EM, MSc, Cuevas-Valdespino IE, González-Gotera N. Cuban Meningococcal BC Vaccine: Experiences & Contributions from 20 Years of Application. *MEDICC Rev* 2007;9(1):16-22.

Recibido: 10 de Enero de 2020

Aceptado: 20 de Enero de 2020

From my point of view, the SBA is not the best analytical laboratory test to evaluate the immunogenicity and protection induced by meningococcal B vaccines. Avidity ELISAs and functional tests that allow the evaluation of the different immune protection mechanisms should be considered. In the same way the WBA could be improved. However, much remains to be studied.

Keywords: *Neisseria meningitidis* serogroup B; meningococcal vaccines; outer membrane vesicles; serum bactericidal assay.

Conflict of interest

No potential conflict of interest was reported.