

Portadores de *Neisseria meningitidis*, caracterización de las cepas aisladas y respuesta inmune basal a VA-MENGOC-BC®

María J. Valdés¹, Isabel Martínez², Gustavo Sierra², María A. Camaraza², Iván Cuevas², Mayelin Mirabal², Pedro Rodríguez², Yadira Fuentes³, Graciela Bolaños², Isabel Villasusa¹.

¹ Escuela Latinoamericana de Medicina (ELAM). Carretera Panamericana Km 3 1/2 Santa Fé, Playa. Ciudad de La Habana, Cuba.

² Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave.27 No. 19805. La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.

³ Hospital Docente Clínico Quirúrgico "Joaquín Albarrán". Ciudad de La Habana, Cuba.

Correo electrónico: mjuliavh@elacm.sld.cu

Con el propósito de conocer la prevalencia de portadores de *Neisseria meningitidis* en un grupo de adolescentes, los marcadores epidemiológicos de las cepas aisladas, así como los factores de riesgo asociados con el estado de portador y la respuesta inmune basal a VA-MENGOC-BC®, se realizó un estudio transversal descriptivo de portadores en 189 estudiantes de 12-19 años de un politécnico de Ciego de Ávila, siguiendo las Normas Bioéticas establecidas. A los estudiantes se les realizó un exudado faríngeo y una extracción de sangre para la obtención de suero, así como una encuesta relacionada con aspectos de la investigación. La identificación de *N. meningitidis* se hizo por el sistema API NH (bioMérieux). Los serosubtipos e inmutipos se clasificaron por ELISA de células enteras con anticuerpos monoclonales y la respuesta inmune basal se detectó por el Ensayo Bactericida del Suero. Se determinó la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas frente a la penicilina, cloranfenicol, rifampicina, sulfadiacina sódica, ceftriaxona y ciprofloxacina. La prevalencia de portadores de *N. meningitidis* fue del 17%. Predominaron las cepas no agrupables (84,7%), seguidas por los serogrupos B (12,5%) y Z (3,1%), destacándose la ausencia del C. Prevalció el fenotipo NA:NT:P1.NST:L3,7,9 (12,5%), las cepas resistentes a la sulfadiacina (78,2%) y sensibles a penicilina (81,3%), aunque el 18,7% mostró sensibilidad intermedia a este fármaco. Al resto de los antimicrobianos todas fueron sensibles. Se constató una respuesta inmune de memoria a la vacuna antimeningocócica (VAMENGOC-BC®), 12 años después de su aplicación, con títulos bactericidas anti C y B de 25 y 42%, respectivamente, resultados que pudieran estar influenciados por la inmunización sistemática que se realiza en Cuba con esta vacuna desde 1991.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*, portadores, memoria inmunológica, ensayo bactericida del suero, susceptibilidad antimicrobiana.

Introducción

La enfermedad meningocócica (EM), entidad clínica ocasionada por *Neisseria meningitidis*, constituye un importante problema de salud en diversas regiones del mundo. Esta enfermedad, que afecta principalmente a los niños y adolescentes, muestra en algunos casos una evolución fulminante, elevada morbilidad, así como la capacidad de producir brotes o epidemias, propiedades que la mantienen como un tema de constante actualidad (1). Su agente etiológico, *N. meningitidis*, es un patógeno exclusivo del hombre que coloniza la nasofaringe y permanece en ella sin ocasionar, en la mayoría de los casos, síntomas ni signos clínicos evidentes de infección, estableciéndose así el denominado estado de portador (2). Por ser el hombre su único reservorio natural, la infección se transmite por el contacto directo, estrecho y prolongado con las secreciones respiratorias del sujeto infectado, lo que explica porqué en los colectivos cerrados existe una mayor probabilidad de contagio y un aumento significativo del índice de portadores (1, 2). Las investigaciones sobre la condición del portador de *N. meningitidis* y su prevalencia en diferentes grupos poblacionales contribuyen de manera significativa a una

mejor comprensión sobre la patogenia y la epidemiología de esta entidad clínica.

Cuba, país que padeció una epidemia severa de EM durante la década de los años 80, exhibe en estos momentos una tasa de incidencia muy baja (0,2/100 000 habitantes) (3), cifra inferior a la notificada en la etapa preepidémica y que experimentó una disminución evidente luego de la incorporación de VA-MENGOC-BC® al Programa Nacional de Inmunizaciones en 1991, razón que justifica la realización de estudios encaminados a conocer la prevalencia de portadores y las características de las cepas de *N. meningitidis* aisladas. Los resultados obtenidos con este tipo de estudio son de gran utilidad para la prevención y el control de la EM. Paralelamente, para un país que logró la obtención de una vacuna antimeningocócica, capaz de disminuir la incidencia de los casos invasivos a cifras muy bajas, sería de especial interés conocer el estado inmunológico de la población, trabajos que permitirán monitorear y evaluar el impacto de VA-MENGOC-BC® en la población inmunizada y sobre el estado de portador de *N. meningitidis*.

Materiales y Métodos

En el año 2000 se realizó un estudio transversal descriptivo de portadores de *N. meningitidis* en adolescentes, con edades comprendidas entre los 12 a 19 años, de un politécnico de oficios de la provincia de Ciego de Ávila. En su diseño se tuvieron en cuenta las exigencias bioéticas y regulatorias nacionales e internacionales establecidas para este tipo de estudio.

Universo de trabajo y muestra

Entre los 523 adolescentes se seleccionó al azar la tercera parte de los alumnos distribuidos en los 21 grupos existentes en ese centro docente, tomando en cuenta que los estudiantes compartían el mismo dormitorio, aunque por no tener los grupos un número homogéneo de alumnos la muestra seleccionada fue de 189 estudiantes. Los mismos llenaron una encuesta confeccionada previamente, donde se indagó sobre los factores de riesgo (edad, sexo, hábito de fumar, régimen de internado y antecedentes de infección respiratoria aguda reciente) que pudieran influir en la condición del estado de portador de *N. meningitidis*.

Toma de muestra del exudado nasofaríngeo

El exudado faríngeo se realizó en la escuela durante la mañana, empleando un depresor lingual estéril. La muestra se tomó con hisopo de algodón estéril y se inoculó directamente en placas de Petri con Agar Mueller Hinton (Merck), enriquecido con suero fetal bovino al 5% (Hyclon) y un complejo inhibidor compuesto por vancomicina, colistina y nistatina (VCN) (bioMérieux). Las placas inoculadas se trasladaron, en un tiempo menor a las 2 h, al Laboratorio de Microbiología, lugar donde se estiraron e incubaron (24-48 h) a 37 °C y atmósfera húmeda con 5-10% de CO₂.

Identificación y confirmación del crecimiento bacteriano

La identificación de las cepas de *N. meningitidis* se realizó mediante el sistema comercial API NH (bioMérieux) y para su seroagrupamiento se empleó la técnica de aglutinación en láminas con antiseros comerciales: A, B, C, X, Y, Z, W135 (Difco). Mientras que la determinación de los serotipos, subtipos e inmunotipos se realizó por un ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM), según el protocolo descrito por Abdillahi y Poolman (4), modificado en el Instituto Finlay (5). Para la determinación de los serotipos y subtipos se utilizó un panel comercial de AcM del Instituto Nacional de Investigaciones para el Hombre y el Ambiente de Holanda (RIVM, por sus siglas en inglés), panel con seis AcM de serotipos y 13 de subtipos. Además, se empleó el AcM P1.19, donado por el Instituto Nacional para Control Biológico y Estándares del Reino Unido (NIBSC, por sus siglas en inglés), centro que también proporcionó los AcM para la identificación de los inmunotipos: L3,7,9, L8 y L10.

Para las técnicas realizadas se emplearon cepas controles, todas pertenecientes al Departamento de Colecciones de Cultivo del Instituto Finlay.

Determinación de la susceptibilidad a los antimicrobianos

Para el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana se siguieron las normas recomendadas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) de los Estados Unidos (M100-S15) (6), empleándose el método de dilución en Agar Mueller-Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero. Se investigaron los siguientes antimicrobianos: penicilina, ceftriaxona, cloranfenicol, rifampicina, ciprofloxacina y sulfadiacina sódica. El inóculo final de todas las cepas fue de 10⁴-10⁵ UFC y sus rangos de dilución fueron: penicilina y rifampicina (0,004-2 µg/mL); ceftriaxona (0,002-1 µg/mL); ciprofloxacina (0,002-1 µg/mL); cloranfenicol (0,063-16 µg/mL) y sulfadiacina sódica (1, 5, 10, 25, 50 y 100 µg/mL); aunque para este último fármaco no se le añadió sangre al medio de Agar Mueller Hinton. La siembra se realizó con la ayuda de un multirreplicador (Steer), incluyéndose placas controles sin antimicrobianos. Los cultivos se incubaron durante 24 h a la temperatura de 37 °C y una atmósfera húmeda con 5-10% de CO₂. La lectura y comparación de los resultados se realizó de forma manual, interpretándose como CMI la menor concentración del antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento de *N. meningitidis*. Se emplearon las categorías de sensible (S), sensibilidad intermedia (SI) y resistente (R), según los rangos de CMI establecidos por CLSI (2005). Los rangos de corte se muestran a continuación:

Agente antimicrobiano	Criterios CLSI (µg/mL)		
	S	SI	R
Penicilina (Merck)	≤ 0,06	0,12-0,25	≥ 0,5
Sulfadiacina sódica (SIGMA)	≤ 1	10	≥ 25
Rifampicina (Merck)	≤ 0,5	1	≥ 2
Cloranfenicol (Merck)	≤ 2	4	≥ 8
Ciprofloxacina (Merck)	≤ 0,03	0,06	≥ 0,12
Ceftriaxona (SIGMA)	≤ 0,12	-	-

Se usaron como controles las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Toma de muestra de sangre y determinación de la respuesta inmune basal contra *N. meningitidis* B y C

Se realizó una extracción de sangre por vía intravenosa mediante el uso de jeringuillas estériles desechables (10 mL). La sangre se centrifugó para obtener el suero y este se mantuvo a -20 °C hasta el momento de la realización del Ensayo Bactericida del Suero (EBS). Debido a la contaminación de algunos sueros, el total de las muestras estudiadas para la determinación de la respuesta inmune contra B fue de 184 sueros y 178 para el serogrupo C.

Cepas utilizadas en el EBS y metodología empleada

Se emplearon las cepas homólogas de *N. meningitidis* 385/83 (B:4:P1.19.15) y C11 ATCC y los lotes de trabajo conservados en el medio Greaves a -70°C . Se aplicó el método recomendado por el Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta (CDC) (7).

Lectura e interpretación de los resultados del EBS

Mediante el uso de un microscopio estereoscópico se realizó el conteo de las colonias en todos los pocillos de la placa y se consideró como indicativo de actividad bactericida en el suero aquellas diluciones donde se observó un crecimiento de colonias igual o menor al 50%, con respecto al número promedio de colonias del control correspondiente a la suspensión bacteriana. El resultado se reportó en título de anticuerpos con relación al recíproco de la dilución del suero: Título Bactericida (TB).

Análisis y procesamiento estadístico de los resultados

El análisis estadístico se realizó usando el paquete S, implementación R, versión 2.1.1 y para todas las comparaciones se usó un nivel de significación del 5%. Se emplearon estadígrafos descriptivos para la edad de los participantes. Se construyeron tablas de frecuencia, que en conjunto con la prueba Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher, permitieron evaluar las posibles relaciones entre las diversas variables y el estado de portador. Para las variables

que recogen los títulos de anticuerpos se calculó la media geométrica.

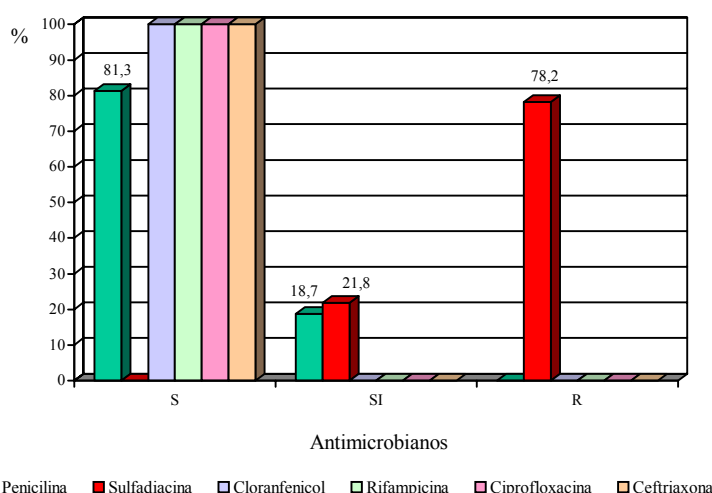
Resultados

De los 189 estudiantes seleccionados, 32 (17%) fueron portadores de *N. meningitidis*. Aunque no se observó diferencia estadísticamente significativa respecto al total de portadores del sexo femenino y masculino, prevalecieron los portadores de *N. meningitidis* entre las adolescentes del grupo de 15 años (76,5%), mientras que en los varones el mayor porcentaje se observó en los estudiantes de 16 años (40%). Al relacionar el resto de los factores de riesgo investigados (hábito de fumar, régimen de internado y antecedentes de infección respiratoria aguda reciente) con el estado de portador, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$).

La caracterización fenotípica de las cepas aisladas se describe en la Tabla 1. Predominaron las cepas no agrupables (NA) (84,4%), seguidas por el serogrupo B (12,5%) y Z (3,1%). Entre los serotipos prevalecieron los no tipables (NT) (53,1%), seguidos por el 15 y el 4, ambos con porcentajes similares (21,9%) y un aislamiento correspondió al serotipo 1 (3,1%). Los subtipos mostraron una mayor diversidad, prevaleciendo las cepas no subtipables (NST) (31,2%) y P1.5 (15,6%). Predominó el inmunitipo L3,7,9 (71,9%).

Tabla 1. Marcadores fenotípicos entre las cepas de *N. meningitidis* aisladas.

Indicador Fenotípico	Clasificación	Aislamientos (n)	%
Serogrupos	NA	27	84,4
	B	4	12,5
	Z	1	3,1
	Total:	32	Total: 100
Serotipos	NT	17	53,1
	15	7	21,9
	4	7	21,9
	1	1	3,1
	Total:	32	Total: 100
Subtipos	P1.NST	10	31,2
	P1.5	5	15,6
	P1.7	3	9,4
	P1.14	3	9,4
	P1.15	3	9,4
	P1.6	2	6,3
	P1.13	2	6,3
	P1.4	1	3,1
	P1.10	1	3,1
	P1.12	1	3,1
	P1.7,13	1	3,1
	Total:	32	Total: 100
	Inmunitipos	L3,7,9	23
NIT		5	15,6
L10		2	6,3
L3,7,9,8		1	3,1
L3,7,9,10		1	3,1
Total:	32	Total: 100	



El estudio de susceptibilidad mostró un franco predominio de cepas sensibles a la penicilina (81,3%), aunque en el 18,7% se observó sensibilidad intermedia (SI) a este fármaco. Frente a la sulfadiacina prevalecieron las cepas resistentes (78,2%), el 21,8% mostró SI y ninguna fue sensible. Al resto de los antimicrobianos todas las cepas fueron sensibles (Figura 1).

Leyenda: NA = No agrupable; NT = No tipable; NST = No subtipable; NIT = No inmunotipable

Figura 1. Susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas de *N. meningitidis* aisladas.

La Tabla 2 muestra los resultados de la actividad bactericida del suero. Doce años después de la inmunización con VAMENGO-BC[®], el 42 y 25% de los estudiantes exhibieron títulos de anticuerpos bactericidas frente a las cepas B y C, respectivamente. El comportamiento de portadores y no portadores con relación a la actividad bactericida del suero no mostró resultados significativos.

Tabla 2. Actividad bactericida del suero contra las cepas B:4:P1.19,15:L3,7,9 y C11 ATCC, según la condición de portador y no portador de *N. meningitidis*.

Condición de portador y no portador de <i>N. meningitidis</i>			
Cepas	Portador <i>N. meningitidis</i>	No portador <i>N. meningitidis</i>	≥ Títulos*
	n (%)	n (%)	
B:4:P1.19,15:L3,7,9	15 (47%)	63 (41%)	≥ 1:4
C11 ATCC	7 (22%)	37 (25%)	≥ 1:8

*Títulos ≥ 1:4 para la cepa de *N. meningitidis* B y ≥ 1:8 para la cepa C (p>0,05)

Discusión

El número de portadores de *N. meningitidis* identificados en este estudio mostró para este grupo de edades cifras similares a las descritas por otros autores, coincidiendo así con los trabajos que señalan porcentajes de portadores elevados entre los adolescentes y adultos jóvenes (10-35%) (8, 9). No obstante, otros notifican cifras inferiores (11,3% y 1,4%) (10, 11). Sin embargo, un estudio realizado en jóvenes

universitarios señala una cifra más elevada (32%) (12), resultado quizás favorecido por tratarse de estudiantes de una academia militar, población sometida a condiciones de vida que propician una mayor interacción social, tales como: el hacinamiento, las maniobras, acampadas y movilizaciones, actividades que incrementan la transmisión de cepas de *N. meningitidis* entre estos individuos.

Aunque no se observó diferencias estadísticamente significativas cuando se relacionó el estado de portador con la edad y el sexo, el ligero predominio de portadores en el sexo femenino coincidió con el resultado descrito por Davies y colaboradores, al estudiar 119 contactos de adolescentes de un caso índice de EM (13). No obstante, numerosos trabajos refieren un mayor número de portadores de *N. meningitidis* entre los varones (14, 15), situación que pudiera quizás estar influenciada por los numerosos estudios realizados en localidades cerradas o semicerradas, sitios donde suele prevalecer la población masculina.

La exposición pasiva y activa al humo del tabaco constituye una de las variables más involucrada con el estado de portador de meningococo debido a los efectos perjudiciales que se le atribuye al humo sobre la acción ciliar de las células de la mucosa respiratoria (16, 17, 18). No obstante, coincidiendo con este estudio, trabajos realizados en diferentes regiones tampoco señalan asociación entre ambas variables (12, 19, 20). El resultado obtenido en este trabajo pudo estar influenciado por la población investigada, grupo de individuos muy jóvenes y con poco tiempo de exposición al tabaco.

El hacinamiento se asocia también al estado de portador y son numerosas las investigaciones que aseveran esta condición, sobre todo aquellas vinculadas con las

poblaciones militares o grupos que conviven en regímenes de internado o seminternado (21, 22). Aunque, en este estudio no se observó diferencias significativas al comparar la condición de alumno interno con el estado de portador de meningococo, está bien documentado que los portadores nasofaríngeos de bacterias potencialmente patógenas y que habitan en instituciones cerradas, aumentan en más de un 50%, propiciándose así una mayor transmisión de estos microorganismos (23).

Algunos autores refieren que las infecciones respiratorias agudas (IRA), principalmente las de etiología viral, predisponen a la colonización nasofaríngea por bacterias patógenas (22, 24). Sin embargo, la evidencia que ejerzan efectos importantes en la adquisición de *N. meningitidis* resulta compleja, así lo expresan los estudios realizados en África y la India durante un período invernal, época caracterizada por el aumento de las IRA, donde contrariamente a lo esperado no detectaron un aumento del índice de portadores (2).

Las características fenotípicas de las cepas aisladas en este estudio difieren del patrón mostrado por las cepas aisladas durante la epidemia de EM en Cuba, etapa donde existió un evidente predominio del fenotipo B:4:P1.19,15:L:3,7,9 (25). Sin embargo, las asociaciones fenotípicas de este trabajo mostraron un comportamiento similar a los obtenidos en los estudios de portadores realizados en Cuba durante los últimos años, resaltándose la gran variabilidad de las cepas (12, 26), resultado que coincide con aquellos que señalan una mayor diversidad entre los aislamientos de portadores (27, 28). El predominio de las cepas NA en este trabajo y la ausencia del serogrupo C, hablan a favor del impacto logrado por la inmunización sistemática con VA-MENGO-BC® desde 1991, comportamiento que se hace más evidente debido al escaso número de cepas virulentas identificadas.

La resistencia a la sulfadiacina constituye una situación reconocida mundialmente. Estudios similares realizados en Cuba (29) y en otras regiones (19, 30) confirman la persistencia de esta resistencia y justifican su abandono como quimioproláctico. Sin embargo, la rifampicina mantiene su vigencia y constituye el fármaco de elección en Cuba y otros países, pero se observa una tendencia a la emergencia de cepas resistentes, sobre todo después de su empleo en la prevención de casos secundarios de EM (31).

Al igual que otros trabajos realizados en Cuba (32), en este estudio todas las cepas fueron sensibles al cloranfenicol. Sin embargo, en Francia y Vietnam se detectan meningococos resistentes a este antimicrobiano, alertándose del aumento de cepas de *N. meningitidis* con características similares (33, 34).

En este trabajo se constató la eficacia de la ceftriaxona, coincidiendo así con lo descrito por otros autores, los que manifiestan su utilidad para el tratamiento de los casos invasivos de EM, demostrando también su efectividad para

erradicar el estado de portador (35). Por otro lado, la ciprofloxacina, fármaco del grupo de las quinolonas, constituye una buena alternativa como quimioproláctico, sin embargo, recientemente se han encontrado en Argentina cepas con SI (36), comportamiento que pudiera estar relacionado con la presión selectiva ejercida por el uso indiscriminado del mismo en las infecciones de la comunidad (31).

Desde hace algunos años, el fenómeno de la SI a la penicilina se ha convertido en un problema para las autoridades de salud. Otros trabajos realizados en Cuba señalan una situación similar a la del presente estudio (26, 37). En España la emergencia de cepas de *N. meningitidis* con SI a la penicilina se identificó desde 1985, situación que aumenta también en varios países y llega a considerarse como un problema terapéutico de gran envergadura (19, 31, 35).

Cuando se analizó la respuesta inmune basal por EBS, el suero de un número considerable de estudiantes mostró anticuerpos bactericidas contra ambas cepas vacunales 12 años después de inmunizados, comportamiento que puede estar relacionado con una respuesta inmune de larga duración inducida por VA-MENGO-BC® y reforzada por la exposición de manera repetida e intermitente a otras cepas de meningococo que inducen la formación de anticuerpos homólogos y heterólogos. No debe descartarse el hecho de que esta inmunidad se refuerza por la exposición a bacterias que no tienen relación taxonómica con *N. meningitidis*, pero que comparten con ella epítopes semejantes e inducen anticuerpos con reactividad cruzada. Se señala que *N. lactamica* induce la formación de anticuerpos bactericidas contra meningococo, protegiendo así de la infección meningocócica (38).

Se puede concluir que, para comprender mejor la transmisión de cepas de *N. meningitidis* dentro de la comunidad se deben seguir realizando estudios similares, trabajos que incorporen otros grupos poblacionales y métodos diagnósticos que contribuyan a una mejor identificación de las cepas. El conocimiento de los marcadores epidemiológicos de las cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos y portadores, así como la respuesta inmune a este microorganismo, constituyen estudios indispensables en la vigilancia epidemiológica de la EM. Identificar los fenotipos y la susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas circulantes aporta una valiosa información para analizar adecuadamente el alcance de las acciones de Salud Pública y posibilitar la toma de decisiones sobre futuras intervenciones basadas en datos científicos.

Referencias

1. Stephens DS. Conquering the meningococcus. FEMS Microbiol Rev 2007;31:3-14.
2. Cartwright K. Epidemiology of meningococcal disease. Hosp Med 2002;63:264-7.

3. Ministerio de Salud Pública. Estadística de Salud en Cuba. Anuario Estadístico 2006. MINSAP. La Habana: Ministerio de Salud Pública. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/doc/sitios/dne/enfmeningococica_1970-2006.doc. [Acceso: 17 de julio del 2007].
4. Abdillahi H, Poolman JT. Whole cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. FEMS Microbiol Letters 1987;48:367-71.
5. Sotolongo F. *Neisseria meningitidis*: Aspectos teórico-prácticos sobre el diagnóstico, clasificación y valoración de la respuesta inmune. Serie monográfica. Cuba. Ciudad de La Habana. Ediciones Finlay. Instituto Finlay. 1995.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 15th Informational Supplement. CLSL/ NCCLS document M100-S15. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa, 2005.
7. Kapczynski DR, Williams DB, Harakeh HS, Carlone GM. *Neisseria meningitidis* serogroup B Bactericidal Assay. Childhood and Vaccine-Preventable Diseases Immunology Section, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, USA. 1997.
8. Yazdankhah SP, Caugant DA. *Neisseria meningitidis*: an overview of the carriage state. J Med Microbiol 2004;53:821-32.
9. Claus H, Maiden MC, Wilson DJ, McCarthy ND, Jolley KA, Urwin R, et al. Genetic analysis of meningococci carried by children and young adults. J Infect Dis 2005;15: 1263-71.
10. Kremastinou J, Tzanakaki G, Levdiotou S, Markou F, Themeli E, Voyiatzi A, et al. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in northern Greece. FEMS Immunol Med Microbiol 2003;39:23-9.
11. Montagna MT, Caggiano G, Germinario C, Trerotoli P, De Donno A, Carrozzini F, et al. Carriers of *Neisseria meningitidis* among teenagers in Apulia (Italy). Ann Ig 2003; 15:845-50.
12. Núñez N, Martínez I, Izquierdo L, Mirabal M, Sierra G. Prevalencia y dinámica de portadores asintomáticos de *Neisseria meningitidis* en estudiantes universitarios de una escuela militar en Ciudad de La Habana. Rev Panam Infectol 2006;8(1):9-17.
13. Davies AL, O' Flanagan D, Salmon RL, Coleman TJ. Risk factors for *Neisseria meningitidis* carriage in a school during a community outbreak of meningococcal infection. Epidemiol Infect 1996;117:259-66.
14. Block C, Gdalevich M, Buber R, Ashkenazi I, Ashkenazi S, Keller N. Factors associated with pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* among Israel defence force personnel at the end of their compulsory service. Epidemiol Infect 1999;122:51-7.
15. Tyski S, Grzybowska W, Dulny G. Tests for *Neisseria meningitidis* in adolescents and adults (recruits). Med Dosw Mikrobiol 2000;52:247-55.
16. Orr HJ, Gray SJ, MacDonald M, Stuart JM. Saliva and meningococcal transmission. Emerg Infect Dis 2003;10:36-9.
17. Pavlopoulou ID, Daikos GL, Alexandrou H, Petridou E, Pangalis A, Theodoridou M, et al. Carriage of *Neisseria meningitidis* by Greek children: risk factors and strain characteristics. Clin Microbiol Infect 2004;10:137-42.
18. MacLennan J, Kafatos G, Neal K, Andrews N, Cameron JC, Evans MR, et al. Social behaviour and meningococcal carriage in British teenagers. Emerg Infect Dis 2006;12: 950-7.
19. Ercis S, Koseoglu O, Salmanzadeh-Ahrabi S, Ercis M, Akin L, Hascelik C. The prevalence of nasopharyngeal *Neisseria meningitidis* carriage, serogroup distribution, and antibiotic resistance among healthy children in Cankaya municipality schools of Ankara province. Mikrobiyol Bul 2005;39(4):411-20.
20. Martínez I, López O, Sotolongo F, Mirabal M, Bencomo A. Portadores de *Neisseria meningitidis* en niños de una escuela primaria. Rev Cubana Med Trop 2003;55:162-8.
21. Andersen J, Berthelsen L, Bech-Jensen B, Lind I. Surveillance of cases of meningococcal disease associated with military recruits studied for meningococcal carriage. Scand J Infect Dis 2000;32:527-31.
22. Yazdankhah S, Kriz P, Tzanakaki G, Kremastinou J, Kalmusova J, Musilek M. Distribution of serogroups and genotypes among disease-associated and carried isolates of *Neisseria meningitidis* from the Czech Republic, Greece and Norway. J Clin Microbiol 2004;42:5146-53.
23. Neal KR, Nguyen-VanTam JS, Jeffrey N, Slack RC, Madeley RJ, Ait-Tahar K, et al. Changing carriage rate of *Neisseria meningitidis* among university students during the first week of term: cross sectional study. BMJ 2000;320:846-9.
24. Caugant DA, Tzanakaki G, Kriz P. Lessons from meningococcal carriage studies. FEMS Microbiol Rev 2007;31:52-63.
25. Valcárcel NM, Rodríguez CR, Molinert HT. La enfermedad meningocócica en Cuba. Cronología de una epidemia. Ciudad de La Habana: Ciencias Médicas; 1991.
26. Martínez I, Sierra G, Núñez N, Izquierdo L, Climent Y, Mirabal M. Caracterización de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores en Cuba durante 20 años. Rev Cubana Med Trop [online Mayo-ago.2006]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-602006000200005&lng=es&nrm=iso>. Acceso 17 Julio 2007.
27. Tzanakaki G, Urwin R, Musilek M, Kremastinou J, Pangalis A, Blackwell CC, et al. Phenotypic and genotypic approaches to characterization of isolates of *Neisseria meningitidis* from patients and their close family contacts. J Microbiol 2001;39:1235-40.
28. Vázquez JA. Situación actual de la epidemiología de la enfermedad meningocócica. Enferm Infecc Microbiol Clin 2006;24:14-8.
29. Martínez I, García D, Sotolongo F, Gutiérrez M, Matute I, Núñez N, et al. Susceptibilidad a agentes antimicrobianos de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas en portadores. VaccinMonitor 2000;9(2):7-13.

30. Ferreira E, Días R, Canica M. Antimicrobial susceptibility, serotype and genotype distribution of meningococci in Portugal, 2001–2002. *Epidemiol Infect* 2006;134: 1203-7.
31. Vázquez JA. Resistance testing of meningococci: the recommendations of the European Monitoring Group on Meningococci. *FEMS* 2007;31:97-100.
32. Martínez I, Matute I, Gutiérrez M, Núñez N, Sotolongo F, García D et al. Ensayo de un diseño metodológico para la búsqueda de portadores de *Neisseria meningitidis*. *VacciMonitor* 1999;8(12):2-9
33. Galimand M, Gerbaud G, Guibourdenche M, Riou J, Patrice C. High-level chloramphenicol resistance in *Neisseria meningitidis*. *N Engl J Med* 1998;339:868-74.
34. Shultz TR, Tapsall JW, White PA, Ryan CS, Lyras D, Road JI, et al. Chloramphenicol-resistant *Neisseria meningitidis* containing *catP* isolated in Australia. *J Antimicrob Chemother* 2003;52:856-9.
35. Antignac A, Ducos-Galand M, Guiyoule A, Pires R, Alonso JM, Taha MK. *Neisseria meningitidis* strains isolated from invasive infections in France (1999-2002): phenotypes and antibiotic susceptibility patterns. *Clin Infect Dis* 2003;37:912-20.
36. Corso A, Faccone D, Miranda M, Rodriguez M, Regueira M, Carranza C, et al. Emergence of *Neisseria meningitidis* with decreased susceptibility to ciprofloxacin in Argentina. *J Antimicrob Chemother* 2005;55:596-7.
37. Caro E, Martínez I, Gutiérrez M, Núñez N, Rodríguez L, Sotolongo F, et al. Marcadores epidemiológicos de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas en Cuba durante el periodo 1985-1992. *VacciMonitor* 2000;9(1):5-11.
38. Gorringe AR. Can *Neisseria lactamica* antigens provide an effective vaccine to prevent meningococcal disease?. *Expert Rev Vaccines* 2005;4:373-9.

***Neisseria meningitidis* carriers, characterization of isolated strains and basal immune response to VA-MENGOC-BC®**

Abstract

A descriptive transversal study of *N. meningitidis* carriers involving 189 students of 12-19 years old of a Polytechnic School in Ciego de Avila province was carried out. This study aimed at knowing the prevalence of *N. meningitidis* carriers, the epidemiological markers as well as risk factors associated to carrier state and to basal immune response to VA-MENGOC-BC® in teenagers. Blood sample and pharyngeal swab tests were carried out to the students, in addition a survey was performed to find out aspects of research. Identification of *N. meningitidis* was carried out by API NH system (bioMérieux). Sero-subtypes and immunotypes were classified by whole cell ELISA with monoclonal antibodies, and basal immune response was detected by Serum Bactericidal Assay (SBA). Antimicrobial susceptibility of strains to Penicillin, Chloramphenicol, Rifampicin, Sodic Sulfadiazine, Ceftriaxone and Ciprofloxacin was determined. Prevalence of *N. meningitidis* was 17%. Non groupable strains were predominant (84.7%), followed by serogroups B (12.5%) and Z (3.1%), serogroup C was absent. Phenotype NA:NT:P1.NST:L3.7.9 (12.5%) prevailed, resistant strains to sulfadiazine (78.2%) and sensitive to penicillin (81.3%), though 18.7% showed intermediate sensitivity to this drug. All strains were sensitive to the remaining antimicrobial drugs. Memory immune response to meningococcal vaccine (VA-MENGOC-BC®) was observed, 12 years after its application, with anti C and B bactericidal titers of 25 and 42% respectively. We consider that these results may be influenced by systematic immunization that is carried out with this vaccine in Cuba since 1991.

Keywords: *Neisseria meningitidis*, carriers, immunologic memory, Serum Bactericidal Assay, antimicrobial susceptibility.

Recibido: Mayo de 2008

Aceptado: Julio de 2008