

## **Aislamiento de cepas invasivas de *Neisseria meningitidis* serogrupos B y Y en la ciudad de Cumaná, años 2009-2010**

*Isolation of Invasive Strains of Neisseria meningitidis,  
Serogroups B and Y, in Cumana, 2009-2010*

**Martínez R., Dianny<sup>1\*</sup>; Payares B., Daisy<sup>2</sup>;  
Medina F., Belkis<sup>1</sup>; Carreño S., Numirin<sup>1</sup>;  
Rodríguez C., Lucy<sup>1</sup>; Marcano Z., Daniel<sup>2</sup>;  
Salgado M., Nuris<sup>2</sup>; Marcano R., María<sup>1</sup>  
y Moreno G., Eidha<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorio de Bacteriología, Hospital Universitario  
“Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, Venezuela.

<sup>2</sup>Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Higiene  
“Rafael Rangel”. Caracas, Venezuela

\* naitava@hotmail.com

### **Resumen**

*Neisseria meningitidis* es agente causal de meningitis y meningococemia. Se realizó la presente investigación a fin de analizar fenotípicamente las cepas invasivas de *N. meningitidis* aisladas en Cumaná, estado Sucre. Se incluyó el total de cepas identificadas como *N. meningitidis* en el laboratorio de bacteriología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, durante los años 2009-2010; provenientes de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) y sangre (hemocultivos). A cada aislamiento se le determinó la susceptibilidad antimicrobiana y el serogrupo respectivo. Durante el período en estudio se analizaron 10 cepas, de las cuales 5 provenían de LCR. El ensayo de susceptibilidad antimicrobiana reveló que las cepas presentaban sensibilidad a penicilina, cefotaxima, meropenem, rifampicina, ciprofloxacina y cloranfenicol siendo sólo resistentes al trimetoprim/sulfametoxazol. El serogrupo más frecuente fue el B (8 cepas), aislándose un caso de serogrupo Y. Respecto al grupo etario de los pacientes, de las 10 cepas, 8 provenían de pacientes pediátricos. Este es el primer estudio con cepas de *N. meningitidis* aisladas en Cumaná, por lo que se

hace imprescindible el análisis permanente de las cepas aisladas en la zona, con fines de monitoreo, principalmente, de la susceptibilidad antimicrobiana y los serogrupos circulantes.

**Palabras clave:** *Neisseria meningitidis*, meningitis, meningococemia, serogrupo B, serogrupo Y.

## Abstract

*Neisseria meningitidis* is the causal agent for meningitis and meningococemia. This research was performed to phenotypically analyze invasive strains of *N. meningitidis* isolated in Cumaná, State of Sucre. The study included all strains identified as *N. meningitidis* isolated in the bacteriology laboratory at the University Hospital "Antonio Patricio de Alcalá," during the years 2009-2010, coming from cerebrospinal fluid (CSF) samples and blood cultures. For each isolate, the antimicrobial susceptibility and respective serogroup were determined. During the period of study, 10 strains were analyzed, of which 5 came from CSF. The antimicrobial susceptibility test revealed that the strains showed sensitivity to penicillin, cefotaxime, meropenem, rifampicin, ciprofloxacin and chloramphenicol; they were resistant only to trimethoprim/ sulfamethoxazole. Serogroup B was the most frequent (8 strains); one case of serogroup Y was isolated. Regarding the patient's ages, of the 10 strains, 8 were found in pediatric patients. This is the first study about strains of *N. meningitidis* isolated in Cumaná, so it is essential that permanent research regarding the strains isolated in the area is carried out for monitoring purposes, mainly in terms of antimicrobial susceptibility and the circulating serogroups.

**Keywords:** *Neisseria meningitidis*, meningitis, meningococemia, serogroup B, serogroup Y.

## Introducción

*Neisseria meningitidis* (meningococo), es un diplococo Gram negativo específico del ser humano, el cual es el único reservorio conocido hasta la fecha (1, 2). *N. meningitidis* es transmitido de persona a persona por contacto con secreciones respiratorias, colonizando el tracto respiratorio superior, específicamente la nasofaringe (1, 3). La persona puede pasar al estado de portador asintomático o, por circunstancias inherentes al hospedero, a la cepa y al ambiente, que aún se encuentran en estudio, invadir el compartimiento intravascular y el espacio subaracnoideo y desarrollar enfermedad meningocócica (EM) (4, 5). La EM se manifiesta con mayor frecuencia de dos formas clínicas: la me-

ningitis meningocócica y la meningococemia. Ambas son urgencias médicas debido a su inicio súbito y rápida progresión, principalmente en la población pediátrica (6, 7); sin embargo, la meningococemia posee mayor tasa de letalidad (más de 55%), que la meningitis meningocócica (8).

*N. meningitidis* se clasifica en 13 serogrupos en base a la composición química del polisacárido capsular, no obstante, la enfermedad epidémica es causada por los serogrupos A, B, C, Y y W-135 (9). Los serogrupos A y C predominan en África, mientras que, en Europa y las Américas, los principales causantes de enfermedad meningocócica son los serogrupos B y C. El serogrupo W-135 se asocia a brotes alrededor del mundo y el serogrupo Y generalmente circula en EEUU y Ca-

nadá (10). En 2006 se reportó un incremento inesperado de aislados pertenecientes al serogrupo Y en Colombia (11).

La organización mundial de la salud ha estimado que al menos 500.000 nuevos casos de infección meningocócica, ocurren cada año en el mundo (12). En Latinoamérica, la incidencia anual muestra marcadas diferencias de un país a otro, variando de menos de 0,1 casos por 100.000 habitantes en países como México, hasta 2 casos por 100.000 habitantes en Brasil (13).

Venezuela, desde hace varios años, presenta brotes esporádicos de meningitis meningocócica. Afortunadamente, se mantiene una baja tasa de letalidad que oscila entre 0,02 y 0,05 muertes por cada 100.000 habitantes (14). En el año 2010 se reportaron 28 casos de meningitis meningocócica y 22 casos de enfermedad meningocócica (distinta a meningitis), para un total de 50 casos en todo el país (15).

Para cada región es vital conocer el número de casos y las características de cada cepa circulante a fin de trazar eficaces políticas de prevención y control de epidemias por meningococo. De allí, que el aislamiento de esta bacteria sea de notificación obligatoria a las direcciones de epidemiología correspondientes. En la región oriental de Venezuela, específicamente en Cumaná, no encontramos antecedentes de trabajos de investigación con *N. meningitidis*, lo cual nos indujo a realizar la presente investigación, a fin de analizar fenotípicamente cepas invasivas de *N. meningitidis* aisladas en la Ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante los años 2009-2010.

## Material y método

### Cepas de *Neisseria meningitidis*

Para el estudio se incluyó la totalidad de aislados identificados por pruebas bioquímicas

convencionales como *Neisseria meningitidis*, en el laboratorio de bacteriología del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" (HUAPA), ubicado en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el período comprendido entre el 2 de enero de 2009 hasta el 31 de diciembre de 2010. Para su inclusión, las cepas debían ser provenientes de muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) o sangre (hemocultivos) de pacientes sin distinción de sexo ni edad, que ingresaban a la emergencia del HUAPA con impresión diagnóstica de meningitis bacteriana y/o meningococcemia.

### Susceptibilidad antimicrobiana

Se realizó mediante el método de difusión con discos (16) en placas con agar Mueller Hinton (BBL), con adicionado de 5% de sangre; en las condiciones estipuladas por el Instituto para la Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI, por sus siglas en inglés) (17). Se ensayaron los siguientes antimicrobianos: cefotaxima (30 µg), rifampicina (5 µg), ciprofloxacina (5 µg), meropenem (10 µg), cloranfenicol (30 µg) y trimetoprim-sulfametoxazol (1.25 µg /23.75 µg); todos de la casa comercial BBL. La interpretación se hizo en base a los puntos de corte estandarizados por el CLSI (17). Para el control de calidad de los discos se utilizaron las cepas certificadas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619 y *Escherichia coli* ATCC® 25922.

Posteriormente, un cultivo joven de la cepa (24 horas de crecimiento en agar sangre), era colocado en un tubo contentivo de medio Amies con carbón (Sigma) y se remitía a temperatura ambiente, conjuntamente con los datos clínico-epidemiológicos del paciente, al Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", en la ciudad de Caracas, para la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima a Penicilina y el serogrupo.

### Determinación de concentración inhibitoria mínima a penicilina (CIM)

Se llevó a cabo siguiendo los lineamientos del CLSI (17, 18) empleando el método de microdilución en caldo Mueller Hinton ajustado en cationes, suplementado con sangre de caballo lisada (DIFCO), utilizando penicilina comercial (Sigma). La interpretación se hizo en base a los puntos de corte estandarizados por el CLSI (17).

### Determinación de serogrupo

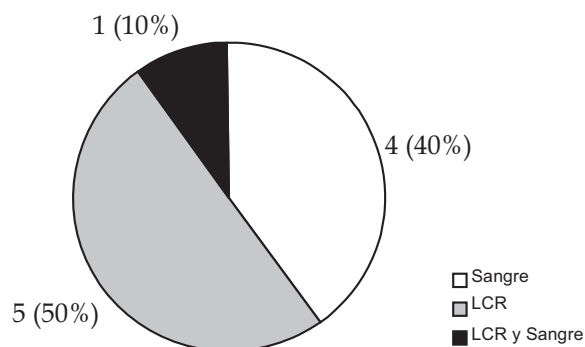
Se realizó mediante la técnica de aglutinación en portaobjetos, utilizando antisueros específicos (DIFCO), los cuales detectan los siguientes antígenos de *Neisseria meningitidis*: A, B, C, D, X, Y, Z y W135.

Todos los resultados se expresaron porcentualmente en tablas y figuras.

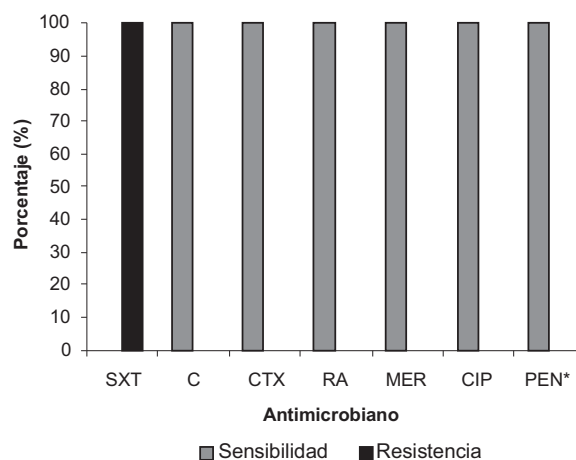
## Resultados

Se aisló un total de 10 cepas de *Neisseria meningitidis*, de las cuales 5 (50%), provenían de muestras de LCR. En un mismo paciente se aisló *N. meningitidis* tanto en LCR como en sangre, por lo que se consideró como una sola cepa (Figura 1). Es importante destacar que durante el período de estudio, se procesó un total de 414 muestras de LCR y 1376 de hemocultivos; provenientes de los servicios de emergencia pediátrica y adultos (no se muestran datos).

Los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana arrojaron un 100% de resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol y sensibilidad al resto de los antimicrobianos ensayados (Figura 2). Tres cepas de *N. meningitidis* no se encontraban viables al momento de realizar CIM para penicilina por lo que los resultados para este antimicrobiano se expresaron en base a 7 cepas (Tabla 1).



**Figura 1.** Distribución porcentual de aislados de *Neisseria meningitidis*, según tipo de muestra. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Enero 2009-Diciembre 2010.



\*Determinada por Concentración Inhibitoria Mínima. SXT: trimetoprim-sulfametoxazol, C: cloranfenicol, CTX: cefotaxima, RA: rifampicina, MER: meropenem, CIP: ciprofloxacina, PEN: penicilina (ensayada sólo en 7 cepas).

**Figura 2.** Susceptibilidad antimicrobiana in vitro de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de muestras de L.C.R. y sangre. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Enero 2009-Diciembre 2010.

El serogrupo más frecuente fue el B (8 cepas; 88,9%), encontrándose únicamente un aislado perteneciente al serogrupo Y. No fue posible la seroagrupación de una cepa por no encontrarse viable (Tabla 2).

De las 10 cepas, 8 provenían de pacientes que ingresaron por el servicio de emergencia pediátrica y 2 de pacientes adultos; 7 de las cepas aisladas en niños pertenecían al serogrupo B (Tabla 3).

## Discusión

La enfermedad por *Neisseria meningitidis* se mantiene como un importante problema de salud pública y relevancia epidemiológica en países en vía de desarrollo y desarrollados. El primer brote epidémico que se encontró reportado en Venezuela, se remonta a 1986 en Carayaca, actual estado Vargas (14). En esta investigación se estudiaron 10 cepas invasivas de *N. meningitidis* aisladas en un período de dos años, de pacientes tanto de la población adulta como pediátrica que ingresaron a la emergencia del hospital central de Cumaná. Según datos suministrados por el servicio de epidemiología regional del estado Sucre (comunicación personal, noviembre 2010), la ciudad de Cumaná no reportaba aislamientos de meningococo al menos en los últimos 20 años. Hasta el año 2008 los casos de enfermedad meningocócica estaban confinados a la zona de la península de Paria (Carúpano y pueblos circunvecinos).

Diversos autores han formulado hipótesis para explicar la aparición de brotes de enfermedad meningocócica: la introducción, transmisión y adquisición de una cepa virulenta de alguna clona no existente en una población susceptible (1), tasas de colonización nasofaríngea de *N. meningitidis* de más de

**Tabla 1.** Concentración Inhibitoria Mínima a penicilina de las cepas de *Neisseria meningitidis* incluidas en el estudio. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Enero 2009-Diciembre 2010.

Código cepa	CIM a penicilina (µg/mL)
Nm01	0,03
Nm02	No viable
Nm03	0,03
Nm04	0,06
Nm05	0,03
Nm06	0,06
Nm07	No viable
Nm08	0,03
Nm09	0,03
Nm10	No viable

**Tabla 2.** Serogrupos de las cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de muestras de LCR y sangre. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Enero 2009-Diciembre 2010.

Serogrupo	Nº cepas	(%)
B	8	88,9
Y	1	11,1
Total*	9	100

\* Una cepa no se encontraba viable al momento de la determinación de serogrupo.

20% (19, 20), o la introducción de una nueva cepa bacteriana virulenta sumado a la coexistencia de factores que incrementan la transmisión y susceptibilidad de la población (9). Se sugiere que esta última hipótesis es la que podría explicar mejor la aparición de casos de

**Tabla 3.** Información epidemiológica de las cepas de *Neisseria meningitidis* incluidas en el estudio. Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Enero 2009-Diciembre 2010.

Código cepa	Servicio	Muestra (s)	Serogrupo
Nm01	E/P	LCR y sangre	B
Nm02	E/P	LCR	B
Nm03	E/P	LCR	B
Nm04	E/A	LCR	Y
Nm05	E/P	Sangre	B
Nm06	E/P	Sangre	B
Nm07	E/P	Sangre	Cepa no viable
Nm08	E/P	LCR	B
Nm09	E/P	Sangre	B
Nm10	E/A	LCR	B

Nm: *Neisseria meningitidis*, E/P: emergencia pediátrica (pacientes menores de 13 años), E/A: emergencia adultos (pacientes mayores de 12 años), LCR: líquido cefalorraquídeo.

patología invasiva por *N. meningitidis* en la ciudad de Cumaná. En el presente estudio, no se determinó si las 10 cepas pertenecían a un mismo genotipo o tenían alguna relación clonal, no obstante, la literatura refiere que, generalmente, las epidemias por *N. meningitidis* se producen por un genotipo en particular (21). En una investigación realizada en 1994 se analizaron 29 cepas de *N. meningitidis* aisladas en la ciudad de Caracas y se determinó que 24 (82,7%) pertenecían al mismo clon (22). No obstante, en un brote ocurrido en un fuerte militar en la misma ciudad de Caracas en 1997, se encontró relación estrecha entre las cepas de *N. meningitidis*, pero no pertenecían a un único clon (23).

Los factores relacionados con el hospedero como la colonización nasofaríngea en ausencia de anticuerpos bactericidas anti- *N. meningitidis*, se asocian con el inicio de enfermedad (24), es posible, que la población estudiada no presentaba inmunidad activa contra este microorganismo favoreciendo así el desarrollo de enfermedad invasiva. Otros

factores externos como el desplazamiento de poblaciones, el hacinamiento y los cambios climáticos se han relacionado con epidemias de *N. meningitidis* ocurridas en los últimos años (3).

Una vez que se han presentado casos de enfermedad meningocócica es fundamental conocer la susceptibilidad antimicrobiana de la o las cepas circulantes. En este estudio, los aislados analizados mostraron sensibilidad a los antimicrobianos empleados actualmente tanto para tratamiento (penicilina, cefotaxima, meropenem, cloranfenicol), como para quimioprofilaxis (ciprofloxacina, rifampicina). La excepción fue la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol, lo cual es concordante con otras investigaciones (25, 26); por lo que su uso no se recomienda, a menos que se esté en presencia de una cepa en particular con demostrada sensibilidad y no se disponga de inmediato de otro quimioprofiláctico (1, 3). La resistencia a sulfonamidas se comunicó inicialmente en América en 1963 en una población militar de Estados Unidos (27). Gra-

cias a estudios de caracterización molecular de mecanismos de resistencia, se ha encontrado que la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol está asociada a mutaciones en el gen *folP* el cual codifica una dihidrotereoato sintetasa modificada (25, 28).

Los datos epidemiológicos de Venezuela y el resto de América latina señalan como predominante a *N. meningitidis* serogrupo B, en concordancia con esta investigación (29-31).

Desde la incorporación de vacunas contra los serogrupos A y C, el serogrupo B ha emergido como causa significativa de enfermedad meningocócica en Europa, Latinoamérica y Norteamérica. La patología por *N. meningitidis* serogrupo B reviste particular interés por el reto que representa en cuanto al diseño de vacunas se refiere (29). Este serogrupo posee una cápsula de homopolímero de ácido  $\alpha$  (2-8) siálico, que es estructuralmente idéntico a las moléculas de adhesión de células neuronales humanas, y por consecuencia pobremente inmunogénico (32). Por lo tanto, países que han sufrido importantes epidemias por *N. meningitidis* serogrupo B, como Cuba, Noruega y Nueva Zelanda, han desarrollado vacunas basándose en otro componente estructural: las proteínas de membrana externa, las cuales han exitosamente reducido la incidencia de brotes locales (33-35).

En este estudio, se aisló una única cepa perteneciente al serogrupo Y. Este serogrupo se reporta con mayor frecuencia en países como Estados Unidos y Canadá, y comúnmente se ha asociado con el desarrollo de neumonía (29, 36), no obstante, se ha reportado emergencia de *N. meningitidis* serogrupo Y en algunos países latinoamericanos como Colombia (11).

Al coexistir dos o más serogrupos en una región es posible que suceda el fenómeno de

“switching” o cambio de cápsula, el cual ocurre por la transferencia horizontal de los genes codificantes de cápsula, los cuales son similares entre los serogrupos B, C, Y y W135. Este fenómeno aún no está totalmente dilucidado pero se ha asociado con presión inmunológica por vacunación contra determinados serogrupos (37), por el hecho de que se ha observado transferencia de genes capsulares entre serogrupos Y y B (38). En la presente investigación, se reportó la presencia de ambos serogrupos en la población estudiada, por lo tanto se puede inferir que es factible que pueda ocurrir en algún momento el fenómeno de cambio capsular B-Y, aumentando la frecuencia del serogrupo Y; favorecido, posiblemente, por presión inmunológica por la vacunación dirigida contra los serogrupos B y C, que, como referimos anteriormente, son los más frecuentes en países de Latinoamérica (10).

Finalmente, el presente estudio mostró el predominio de casos de enfermedad meningocócica en la población pediátrica (0-12 años). Las tasas de morbilidad por EM en este grupo etario son elevadas en América (13, 39, 40). La enfermedad meningocócica es de muy rápida progresión y elevada letalidad en niños (particularmente en menores de dos años), por la ausencia de anticuerpos protectores en un sistema inmunológico aún en desarrollo (6, 7, 39). Este mayor número de casos en niños pudo deberse, a que esta población asiste a hogares de cuidado diario y escuelas primarias, en los cuales, por ser espacios cerrados, existe contacto estrecho y en muchos casos hacinamiento, situación que favorece la transmisión de *N. meningitidis*, además la cercanía entre los asientos en las aulas de clase, ha sido identificada como factor de riesgo de colonización nasofaríngea (41).

Por su rápida evolución y letalidad, los casos de enfermedad meningocócica causan

gran tensión en el equipo de salud y la sociedad en general. El certero diagnóstico clínico - microbiológico y el oportuno y eficaz tratamiento antimicrobiano, pueden significar la diferencia entre la vida y la muerte de un paciente. De acuerdo a la revisión realizada, este es el primer estudio con cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas en la ciudad de Cumaná, por lo que debe tomarse en cuenta como agente causal de meningitis y septicemia en aquellos casos que se presenten en habitantes de esta ciudad. Se hace ahora imprescindible mantener un monitoreo permanente mediante estudios de caracterización fenotípica y molecular de las cepas aisladas tanto de casos como de portadores nasofaríngeos, que orienten en el diseño de programas de inmunoprofilaxis y a la instauración de terapia antimicrobiana acertada a los casos que puedan presentarse a futuro.

### Referencias bibliográficas

- (1) Rosenstein N, Perkins B, Stephens D, Popovic T, Hughes J. Meningococcal disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 1378-1388.
- (2) Stabler R, Marsden G, Witney A, Li Y, Bentley S, Tang C et al. Identification of pathogen-specific genes through microarray analysis of pathogenic and commensal *Neisseria* species. *Microbiology* 2005; 151: 2907-2922.
- (3) World Health Organization Control of epidemic meningococcal disease. WHO practical guidelines. [Internet]. 2<sup>a</sup> Ed. [Citado 15/5/2011]. Disponible en: [http://www.who.int/csr/resources/publications/meningitis/WHO EMC\\_BAC\\_98\\_3\\_EN/en/](http://www.who.int/csr/resources/publications/meningitis/WHO EMC_BAC_98_3_EN/en/)
- (4) De Souza A y Seguro A. Two centuries of meningococcal infection: from Vieusseux to the cellular and molecular basis of disease. *J Med Microbiol* 2008; 57: 1313-1321.
- (5) Stephens D. Uncloaking the meningococcus: Dynamics of carriage and disease. *Lancet* 1999; 353: 941-942.
- (6) Granier S, Owen P, Pill H, Jacobson L. Recognizing meningococcal disease in primary care: qualitative study of how general practitioners process clinical and contextual information. *Br Med J* 1998; 316: 276-279.
- (7) Granier S, Owen P, Stott N. Recognizing meningococcal disease: the case for further research in primary care. *Br J Gen Pract* 1998; 48: 1167-1171.
- (8) Brandtzaeg P. Pathogenesis and pathophysiology of invasive meningococcal disease. *Handbook of Meningococcal Disease: Infection, biology, vaccination, clinical management*. Weinheim: Wiley-VCH; 2006. p. 427-480.
- (9) Achtman M. Global epidemiology of meningococcal disease In: Cartwrightk editor *Meningococcal disease*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, LTD; 1995. p. 159-175.
- (10) Boletín epidemiológico MS. Semana 50. Venezuela. Año 2006.
- (11) Aguledo C, Sanabria O, Ovalle M. Serogroup Y meningococcal disease, Colombia [letter]. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(6): 990-991.
- (12) Brandtzaeg P, Van Deuren M. Current concepts in the role of the host response in *Neisseria meningitidis* septic shock. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 247-252.
- (13) Safadi M, Cintra O. Epidemiology of meningococcal disease in Latin America: current situation and opportunities for prevention. *Neurol Res* 2010; 32: 263-271.
- (14) Oletta J, Carvajal A, Godoy O, Peña S, editores. *Enfermedad meningococcica guía básica* [internet]. Caracas. Red de sociedades científicas médicas de Venezuela; 2009 [citado 10/12/2010]. Disponible en: <http://www.rscmv.org.ve/pdf/notan-ro13.pdf>.
- (15) Boletín epidemiológico. MPPS. Semana 52. Venezuela. Año 2010.
- (16) Bauer, A.; Kirby, W.; Sherris, J y Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493.
- (17) Clinical and Laboratory Standards Institute. Disk diffusion. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20th in-



- formational supplement, 2010; M100-S20. Wayne, Pa, USA.
- (18) Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically: Approved Standard; 8th edition, 2009; M07-A8. Wayne, Pa, USA.
- (19) Schwartz B, Moore P, Broome, C. Global epidemiology of meningococcal disease. Clin Microbiol Rev 1989; 2: 118-124.
- (20) Jones D. Epidemiology of meningococcal disease in Europa and the USA. En: Cartwright K, editor. Meningococcal disease. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, LTD; 1995. p. 147-157.
- (21) Caugant D, Froholm L, Bovre K, Holten E, Frasch C, Mocca L, et al. Intercontinental spread of a genetically distinctive complex of clones of *Neisseria meningitidis* causing epidemic disease. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83: 4927- 4931.
- (22) Toro S, Berron S, de la Fuente L, Fernández S, Franco E, León L, et al. A clone of *Neisseria meningitidis* serogroup C was responsible in 1994 of an unusual high rate of strains with a moderate resistance to penicillin in Caracas (Venezuela). Enferm Infecc Microbiol Clin 1997; 15(8): 414-417.
- (23) Toro S, Fernández S, Rodas A. Tipificación por Electroforesis en Campo Eléctrico Pulsado (PFGE) de cepas de *Neisseria meningitidis*, aisladas de un brote de infección meningocócica en un fuerte militar en Caracas. INHRR 2005; 36(1): 28-34.
- (24) Emonts M, Hazelzel J, de Groot R, Hermans P. Hoste genetic determinants of *Neisseria meningitidis* infections. Lancet Infect Dis 2003; 3: 565-577.
- (25) Jorgensen J, Crawford S, Fiebelkorn K. Susceptibility of *Neisseria meningitidis* to 16 antimicrobial agents and characterization of resistance mechanisms affecting some agents. J Clin Microbiol 2005, 43: 3162-3171.
- (26) Arreaza L, de la Fuente L, Vásquez J. Antibiotic susceptibility patterns of *Neisseria meningitidis* isolates from patients and asymptomatic carriers. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1705-1707.
- (27) Millar J, Siess E, Feldman H, Silverman C, Frank P. In vivo an in vitro resistance to sulfadiazine in strains of *Neisseria meningitidis*. JAMA 1963; 186:139-141.
- (28) Fiebelkorn K, Crawford S, Jorgensen J. Mutations in *folP* associated with elevated sulfonamide MICs in *Neisseria meningitidis* clinical isolates from five continents. Antimicrobiob Agents Chemother 2005; 49: 536-540.
- (29) Racloz V, Silva J. The elusive meningococcal meningitis serogroup B epidemiology. BMC Infect Dis 2010; 10: 175-183.
- (30) Martínez I, Sierra G, Núñez N, Izquierda L, Climen Y, Mirabal M. Caracterización fenotípica de cepas invasivas de *Neisseria meningitidis* aisladas en Cuba durante 20 años. Vaccimonitor 2006; 15 (1): 9-16.
- (31) Efron A, Sorhouet C, Salcedo C, Abad R, Regueira M, Vásquez J. W135 Invasive meningococcal strains spreading in South America: significant increase in incidence rate in Argentina. Clin Microbiol 2009; 47: 1979-1980.
- (32) Brehony C, Jolley K, Maiden M. Multilocus sequence typing for global surveillance of meningococcal disease. FEMS Microbiol Rev 2007; 31: 15-26.
- (33) Frediksen J, Rosenquist E, Wedege E, Bryn K, Bjune G, Froholm L et al. Production, characterization and control of Men-B vaccine "Folkehelsa": and outer membrane vesicle against group B meningococcal disease. NIPH Ann 1991; 14: 67-79.
- (34) Oster P, Lennon D, O Hallahan J, Mulholland K, Reid S, Martin D. MenNZB: a safe and highly immunogenic tailor-made vaccine against the New Zeland *Neisseria meningitidis* serogroup B disease epidemic strain. Vaccine 2005; 23: 2191-2196.
- (35) Rodríguez A, Dickinson F, Baly A, Martínez R. The epidemiological impact of antimeningococcal B vaccination in Cuba. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999; 94: 433-440.
- (36) Hill D, Griffiths N, Borodina E, Virji M. Cellular and molecular biology of *Neisseria meningitidis* colonization and invasive disease. Clin Sci 2010; 118: 547-564.

- (37) Stefanelli P, Fazio C, Neri A, Sofia T, Mastrotrantonio P. First report of capsule replacement among electrophoretic type 37 *Neisseria meningitidis* in Italy. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 5783-5786.
- (38) Beddek A, Li M, Kroll J, Jordan T, Martin D. Evidence for capsule switching between carried and disease-causing *Neisseria meningitidis* strain. *Infect Immun* 2009; 77: 2989-2994.
- (39) Cohn A, Macneil J, Marrison L, Hatcher C, Theodore J, Schmid M. Changes in *Neisseria meningitidis* disease epidemiology in the United States, 1998-2007: implications for prevention of meningococcal disease 2010; 50: 184-191.
- (40) Shepard C, Rosenstein N, Fischer M. Active bacterial core surveillance team. Neonatal meningococcal disease in the United States, 1990 to 1999. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 418-422.
- (41) Almeida L, Franco C, Pérez L, Santos J. Enfermedad por meningococo *Neisseria meningitidis*: perspectiva epidemiológica, clínica y preventiva. *Salud Publica Mex* 2004; 46: 438-450.