

INSTITUTO FINLAY

Portadores de *Neisseria meningitidis* en niños de una escuela primaria

Dra. Isabel Martínez,¹ Dr. Omar López,² Dr. Franklin Sotolongo,³ Lic. Mayelin Mirabal⁴ y Lic. Antonio Bencomo⁵

RESUMEN

Se realizó, con la autorización de la Dirección Municipal de Educación, Dirección Municipal de Salud y el consentimiento informado de los padres, un estudio transversal descriptivo en 318 niños de la Escuela "Mártires del Corynthia"; con el propósito de conocer la prevalencia de portadores de meningococo en niños de edad escolar, determinar los marcadores epidemiológicos de las cepas aisladas y establecer la posible relación existente entre el portador y las variables como edad, sexo, antecedente de infección respiratoria aguda, hacinamiento, amigdalectomía, efecto inhibitorio de la flora acompañante y el estado secretor de antígenos ABH en la saliva. A todos, se les tomó exudado nasofaríngeo y una muestra de saliva. Además, los padres llenaron una encuesta donde se indagó sobre los factores de riesgo a investigar. Se detectó 6,9 % de portadores de meningococo y predominaron las cepas NA:NT:P1.NST:L3,7,9. Los factores de riesgo que dieron resultados estadísticamente significativos respecto a la condición de portador de *Neisseria meningitidis* fueron: edad, antecedente de infección respiratoria aguda y la presencia de *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria lactamica* de la flora bacteriana acompañante en la nasofaringe de los niños investigados.

DeCS: NEISSERIA MENINGITIDIS / aislamiento & purificación; MENINGITIS MENINGOCOCICA / epidemiología; MENINGITIS MENINGOCOCICA / prevención & control; FACTORES DE RIESGO; PORTADOR; NIÑO; ESCUELAS.

Los portadores nasofaríngeos de *Neisseria meningitidis* constituyen un reservorio y el vehículo de transmisión y diseminación de la enfermedad meningocócica (EM). Por otra parte, se demuestra que el estado de portador constituye un elemento inmunizante capaz de generar anticuerpos bactericidas.¹ Por lo tanto, determinar las características epidemiológicas de los portadores resulta un tema de máximo interés para conocer mejor la dinámica de esta enfermedad.

Los estudios de portadores se realizan fundamentalmente en instituciones cerradas, pequeñas comunidades étnicas, grupos familiares o como investigación secundaria a la aparición de

brotos. En etapas no epidémicas, se concentran en grupos definidos de edad como escolares, soldados, o familiares de casos con EM. Los estudios longitudinales permiten conocer la duración del estado de portador, mientras que, los transversales pretenden conocer la prevalencia de portadores en un momento y lugar determinado. Resulta también motivo de investigación, la detección de variables o factores de riesgo que contribuyen a la colonización de *N. meningitidis* en la nasofaringe de los individuos sanos.^{1,2}

La amplia cobertura nacional alcanzada con el Programa de Inmunización de Cuba, desempeña un papel decisivo en la reducción de la incidencia

¹ Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Titular. Instituto Finlay.

² Especialista de I Grado en Medicina General Integral. Especialista de I Grado en Microbiología. Hospital General Docente "Comandante Pinares". Pinar del Río.

³ Especialista de II Grado en Microbiología. Instituto Finlay.

⁴ Licenciado en Matemática. Instituto Finlay.

⁵ Licenciado en Bioquímica. Investigador Auxiliar. Instituto de Hematología.

de EM en Cuba, la que presenta actualmente, cifras similares a las de la etapa pre-epidémica.³ Después del impacto alcanzado por VA-MENGOC-BC⁰ entre la población infantil de Cuba y haber transcurrido casi 12 años de su incorporación al Programa Nacional de Inmunización, resulta de gran interés para el Instituto Finlay, realizar estudios de portadores en diferentes grupos de riesgo. Estas investigaciones se intensifican a partir de 1998 y muestran datos interesantes respecto a las características de las cepas aisladas.⁴⁻⁶ Por ese motivo, se realizó esta investigación en niños de edad escolar, grupo de riesgo aún no incluido en los estudios anteriores.

MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal descriptivo en 318 niños sanos de 5 a 12 años de edad de la Escuela Primaria "Mártires del Corynthia" del municipio Playa, de Ciudad de La Habana. Previo a su realización, se obtuvo la aprobación del Comité de Ética del Instituto Finlay, Dirección Municipal de Educación, Dirección Municipal de Salud Pública y el consentimiento informado de los padres. Ellos, llenaron un cuestionario donde se indagó sobre las variables y los objetivos de la investigación. Se tomaron en cuenta criterios de inclusión y exclusión: se excluyeron los niños que recibieron antimicrobianos 7 d antes de la toma de muestras, o estuvieran bajo tratamiento inmunosupresor u otro medicamento que modificara su estado inmunológico. Se excluyeron también los niños cuyos padres no manifestaron el consentimiento escrito de participación.

Las variables o factores de riesgo investigados fueron cualitativas y cuantitativas. Dentro de las cualitativas se incluyeron: sexo, hacinamiento (si dormían en el dormitorio del niño un número de personas mayor que 3), antecedentes de infección respiratoria aguda (IRA), fumador pasivo (si el niño convivía con al menos un fumador), amigdalectomía, flora bacteriana acompañante de la nasofaringe (otras bacterias que colonizaban la nasofaringe) y el estado secretor de los antígenos sanguíneos ABH en la saliva. Entre las cuantitativas se tuvo en cuenta la edad (años).

Las muestras se recogieron en la propia escuela, con ayuda de un depresor lingual estéril.

Se realizó exudado de la nasofaringe posterior y amígdalas con hisopo estéril de algodón e inmediatamente se sembró en placas de Agar Thayer Martin más sangre de carnero desfibrinada 10 % y suplemento inhibidor de vancomicina, nistatina y colistina (VCN) y en Agar Mueller Hinton con sangre de carnero desfibrinada 5 %. Posteriormente, con pipeta desechable se recolectó 1 mL de saliva en un vial estéril y se mantuvo en bolsa refrigerada hasta su traslado al Laboratorio de Microbiología de la Dirección de Asistencia Científica Técnica Aplicada (DACTA), lugar donde se inactivó, centrifugó, decantó el sobrenadante a otro vial y se conservó a - 70 °C hasta su procesamiento. Las muestras se trasladaron en un lapso de tiempo no mayor que 2 h. En el Laboratorio de Microbiología, las placas se estiraron e incubaron a 37 °C en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂, realizándose la lectura a las 24 y 48 h. La identificación de las colonias de los géneros *Neisseria* y *Moraxella* se realizó por los métodos convencionales⁷ y el sistema comercial API NH (*bioMérieux*). Las cepas de *N. meningitidis* se seroagruparon por aglutinación en lámina con antiseros comerciales (Difco) de los serogrupos A, B, C, X, Y, Z, W135 y para determinar los serotipos, subtipos e inmunotipos se utilizó un ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM),⁸ empleando los ofertados en el estuche comercial del Instituto Nacional de Investigaciones para el Hombre y el Ambiente de Holanda (RIVM) y el AcM P1.19 del Instituto Nacional para Control Biológico y Estándares del Reino Unido (NIBSC).

Las colonias de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus b hemolítico*, se identificaron por métodos convencionales y posteriormente se confirmaron por aglutinación con Látex (Slidex Strepto Kit A.B.C.D.F.G, y Slidex meningite Kit 5, *bioMérieux*).⁹

El estado secretor de antígenos ABH en la saliva se realizó por la técnica de inhibición de la hemaglutinación.¹⁰

Para el análisis estadístico se empleó el paquete estadístico SPSS, versión 10.0. Siempre que los datos lo permitieron, se utilizó, el *test* chi cuadrado o el *test* exacto de Fisher para detectar asociaciones entre la variable *N. meningitidis* y el

resto de las variables cualitativas. Para la variable *N. meningitidis* y edad se utilizó la prueba t de Student. Para todas las comparaciones se empleó un nivel de significación de 0,05. Para cuantificar el grado de asociación entre la variable *N. meningitidis* y las variables cualitativas, se calcularon estimaciones puntuales y por intervalos de 95 % de confianza (IC) del *odd ratio* (OR).

RESULTADOS

De una matrícula total de 380 niños, 318 cumplieron los requisitos del estudio. Entre estos, *N. meningitidis* se aisló en 22 (6,9 %) y los 296 restantes (93,1 %), resultaron negativos.

Respecto a la edad (fig. 1), los mayores porcentajes de *N. meningitidis* se detectaron entre los niños de 11 años (36,4 %), 9 (18,2 %) y 10 años (13,6 %). La media de edad en el grupo de los portadores de meningococo fue mayor (9,13), que la media en el grupo de los no portadores de este microorganismo (8,05). Esta diferencia resultó estadísticamente significativa ($p=0,024$).

La tabla 1 muestra la relación entre algunas de las variables y el portador de meningococo. El antecedente de IRA influyó de forma estadísticamente significativa ($p=0,02$), sobre la condición del portador de *N. meningitidis*, resultando mucho mayor (13,6 %) entre los portadores de meningococo que entre los no

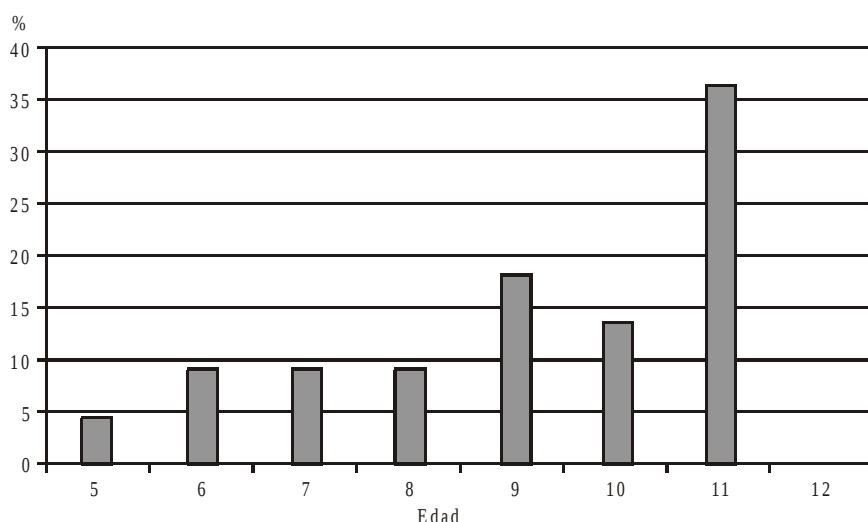


Fig. 1. Portadores de *Neisseria meningitidis* según la edad ($p=0,024$).

TABLA 1. Portadores de *Neisseria meningitidis* y análisis de las variables cualitativas

Factores de riesgo	Definición de la variable	Portadores	No portadores	Valor p
Sexo	Masculino	45,5	45,6	$p > 0,05$
Hacinamiento	Si en el dormitorio dormía un número de personas mayor que 3	22,7	9,5	$p > 0,05$
Antecedentes de IRA	Si tuvo antecedente de IRA	13,6	2,0	$p = 0,02$
Fumador pasivo	Convivencia con al menos un fumador en el núcleo familiar	50,0	52,4	$p > 0,05$
Amigdalectomía	Si se realizó amigdalectomía	4,5	5,7	$p > 0,05$
Flora bacteriana acompañante*	Presencia de <i>N. lactamica</i>	0,0	33,4	$p = 0,00$
	Presencia de <i>S. pneumoniae</i>	31,8	10,1	$p = 0,002$
Estado secretor	Secretor de antígenos de grupos sanguíneos ABH en la saliva	81,8	81,8	$p > 0,05$

* Se muestran los resultados de *N. lactamica* y *S. pneumoniae* porque solo con estos microorganismos se obtuvieron resultados estadísticamente significativos.

portadores (2,0 %) de este microorganismo. Las personas con antecedente de IRA tuvieron un riesgo significativamente más elevado (OR= 7,63, IC 95 %: 6,17; 9,09) de ser portadores de meningococo que los que no manifestaron este antecedente.

En la tabla 1 se refleja también, la diferencia estadísticamente significativa detectada al analizar la relación entre la flora bacteriana acompañante de la nasofaringe y el portador de meningococo. En 31,8 % de portadores de *N. meningitidis* se aisló también *S. pneumoniae*, mientras que, entre los no portadores de meningococo, se encontró neumococo en 10,1 % ($p=0,002$). Las personas con *S. pneumoniae* tuvieron un riesgo más elevado (OR= 4,14, IC 95 %: 3,17; 5,11) de ser portadores de meningococo. Sin embargo, *Neisseria lactamica* se detectó en un alto porcentaje (33,4 %) de niños no portadores de meningococo, mientras que, entre los portadores de *N. meningitidis* no se aisló *N. lactamica* (0,0 %). Esta asociación mostró resultado estadísticamente significativo ($p=0,00$). El presentar *N. lactamica* no constituyó un factor de riesgo (OR= 0,05, IC 95 %: 0,049; 5,11). En el resto de las variables no hubo resultados con diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$) respecto al portador de *N. meningitidis*.

La condición de portador de meningococo y su relación con el estado secretor de antígenos ABH en la saliva mostró que, tanto los portadores como no portadores de *N. meningitidis* (81,8 % en ambos casos), resultaron secretores de estos antígenos (fig. 2).

Al analizar los microorganismos de la flora bacteriana acompañante de la nasofaringe, algunos potencialmente patógenos (tabla 2), los mayores porcentajes de aislamiento correspondieron a *S. aureus* (33,6 %), *N. lactamica* (29,8 %) y *S. pneumoniae* (11,6 %). Se aislaron también algunas especies beta-hemolíticas del género *Streptococcus*.

Entre las cepas de *N. meningitidis*, 20 (90,9 %) resultaron no agrupables (NA) y 2 (9,1 %) fueron serogrupo Y. De las NA, 8 (36,40 %) se clasificaron como NA:NT:P1.NST:L3,7,9 y 3 (13,60 %) como NA:15:P1.6:L3,7,9; el resto mostró gran diversidad de sero/subtipos. Respecto a la identificación de los inmunotipos, la mayoría de las cepas reaccionaron con el AcM L3,7,9 y solo una resultó no inmunotipable (tabla 3).

TABLA 2. Otros microorganismos aislados en los niños investigados

Microorganismos	No.	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	107	33,6
<i>Neisseria lactamica</i>	95	29,8
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	37	11,6
<i>Streptococcus b - hemolítico G</i>	27	8,4
<i>Streptococcus b - hemolítico A</i>	10	3,1
<i>Streptococcus b - hemolítico C</i>	10	3,1
<i>Streptococcus b - hemolítico B</i>	6	1,8
<i>Moraxella catarrhalis</i>	4	1,2
<i>Streptococcus b - hemolítico F</i>	1	0,3
<i>Streptococcus b - hemolítico D</i>	1	0,3
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0,3
<i>Neisseria polysaccharea</i>	1	0,3

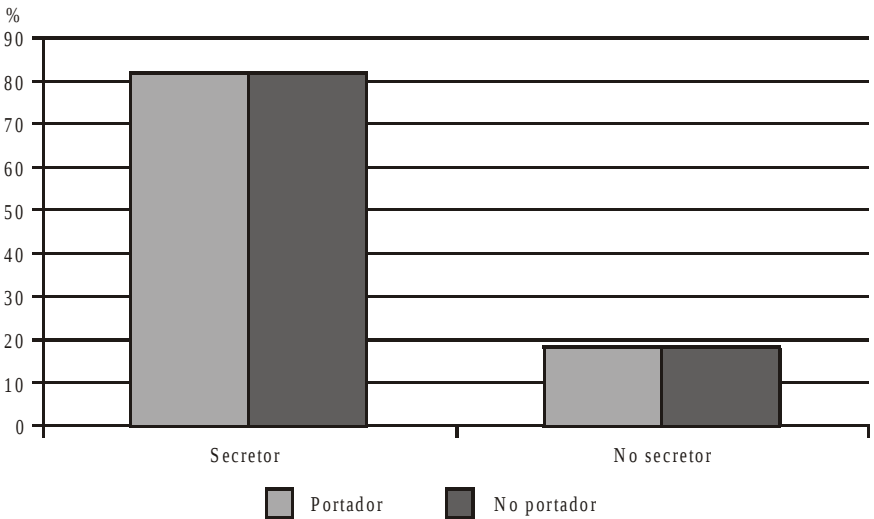


Fig. 2. Estado secretor de antígenos ABH y su relación entre el portador y no portador de *Neisseria meningitidis*.

TABLA 3. Asociaciones fenotípicas detectadas en cepas de *N. meningitidis*

Fenotipos	No.	%
NA:NT:P1.NST:L3,7,9	8	36,40
NA:15:P1.6:L3,7,9	3	13,60
NA:4:P1.19:L3,7,9	1	4,54
NA:14:P1.7:L3,7,9	1	4,54
NA:14:P1.7,10:L3,7,9	1	4,54
NA:15:P1.NST:L3,7,9	1	4,54
NA:NT:P1.6:L3,7,9	1	4,54
NA:NT:P1.12:L3,7,9	1	4,54
Y:NT:P1.2:L3,7,9	1	4,54
Y:NT:P1.NST:L3,7,9	1	4,54
NA:NT:P.10,13:L3,7,9	1	4,54
NA:4:P1.13:L3,7,9	1	4,54
NA:NT:P1.NST:L:NIT	1	4,54

NA: no agrupable, NT: no tipable, NST: no subtipable, NIT: no inmunotipable.

DISCUSIÓN

El número de portadores de *N. meningitidis* de este trabajo, resultó ligeramente superior al de Álvarez y otros, quienes señalaron 4,3 % en niños de un Círculo Infantil de Ciudad de La Habana.⁶ Mientras que, Martínez y Zamora, detectaron 32,5 y 17,5 % en adultos jóvenes y adolescentes respectivamente, grupos que en general presentaron una mayor prevalencia.^{4,5} En este trabajo, los niños de 11 años mostraron el mayor porcentaje de portadores de meningococo. Sin embargo, algunos autores reportan un mayor riesgo para la población de 14 a 18 años.¹¹

Aunque no existió diferencia estadísticamente significativa respecto al sexo, entre las niñas, hubo un mayor número de portadores de meningococo. No obstante, otros trabajos reportan una mayor incidencia entre el sexo masculino.¹²

La edad constituyó una de las variables con resultado estadísticamente significativo. Estudios de prevalencia en comunidades occidentales, reportan que, durante los primeros años de vida, los portadores de meningococo son poco frecuentes, aumentando durante la adolescencia y primeros años del adulto joven, para luego declinar suavemente.²

No resultó estadísticamente significativa la relación del estado de portador de meningococo y la variable fumador pasivo. Sin embargo, esta relación se reporta desde la década de los años 80.¹³ Estudios en Noruega señalan que, tanto el

fumador activo como el pasivo, constituyen un importante factor de riesgo para la EM. Se cree que el humo del cigarro interfiere la acción ciliar de las células de la mucosa respiratoria y reduce las defensas locales frente a los microorganismos patógenos.¹⁴

Existió un resultado significativo entre la relación del portador de *N. meningitidis* y el antecedente de IRA. Existen evidencias de que las IRA por virus, influyen en la presencia de este microorganismo y otras bacterias al nivel de la nasofaringe.¹⁵ Se sabe que la nasofaringe humana constituye un reservorio natural para *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *N. meningitidis*. Por su alto contenido en bacterias vivas, la saliva de las personas sanas ejercen un efecto inhibitorio para *N. meningitidis*, mientras que, en el mucus nasal resulta diferente. Esto pudiera explicar por qué este microorganismo habita con mayor frecuencia en la nasofaringe posterior.¹⁶ Detectar bacterias potencialmente patógenas en individuos sanos resulta de gran valor y aunque mucho se trabaja en este aspecto, la actividad resulta compleja. A este nivel, la flora bacteriana está compuesta por microorganismos aerobios y anaerobios, lo que, unido a la carencia de métodos reproducibles para cuantificarlos, hacen difícil los estudios de interacción entre *N. meningitidis* y los microorganismos que conforman la flora nasofaríngea.²

Este trabajo detectó un resultado significativo entre los portadores de *N. meningitidis* y el aislamiento de *N. lactamica*, considerado como no patógeno e íntimamente relacionado con el meningococo. La exposición a *N. lactamica* permite desarrollar inmunidad protectora contra la EM; esta capacidad confirma su potencial en la obtención de vacunas contra la infección meningocócica.¹⁷

Por primera vez en Cuba se investiga, en este tipo de estudio, la búsqueda del estado secretor de los antígenos ABH en la saliva y su posible asociación con la colonización de *N. meningitidis* en la nasofaringe de personas sanas. El estado “secretor” es una condición determinada genéticamente que capacita a los individuos para secretar en la saliva y en otros fluidos corporales, antígenos de los grupos sanguíneos.¹⁸ Se describen

trabajos que relacionan la condición del “no-secretor” con patologías tanto infecciosas como no infecciosas, ubicando entre las primeras, una mayor susceptibilidad a las infecciones por *N. meningitidis* y otros agentes biológicos.^{18,19} Aunque en los niños de la Escuela “Mártires del Corintia” no existieron diferencias estadísticamente significativas respecto a este factor de riesgo y el estado de portador de meningococo, *Blackwell* señala una alta proporción de “no-secretores” entre los portadores de este microorganismo y una mayor susceptibilidad a la EM entre las personas con esta condición.¹⁸

Las características fenotípicas de las cepas de *N. meningitidis* aisladas en este trabajo, difieren del patrón de las cepas aisladas en la etapa epidémica de EM en Cuba, período en el cual existe un predominio de cepas B:4:P1.19,15:L3,7,9.²⁰ Sin embargo, presentan un comportamiento similar con resultados obtenidos en estudios de portadores realizados en Cuba durante los últimos 5 años.^{4-6,20} Otros autores también se refieren a la gran variabilidad fenotípica que pueden presentar las cepas de meningococo aisladas de portadores.^{2,11,12}

El número de portadores de *N. meningitidis* detectado en los niños de la Escuela “Mártires del Corintia”, mostró cifras similares a las descritas en la literatura durante períodos no epidémicos. Se constató que algunos de los factores de riesgo investigados favorecieron la colonización nasofaríngea por *N. meningitidis*. El predominio de cepas NA y con una gran diversidad fenotípica, inclina a pensar que, la inmunización sistemática con VA-MENGOC-BC® en la población infantil cubana, ha influido en la disminución de cepas virulentas.

SUMMARY

A cross-sectional and descriptive study was conducted among 318 children from the “Mártires del Corintia” Primary School under the authorization of the Municipal Division of Education and the informed consent of their parents aimed at knowing the prevalence of meningococcal carriers in school children, determining the epidemiological markers of the isolated strains and establishing the possible relation existing between the carrier and variables, such as age, sex, acute respiratory infection history, vaccination, tonsillectomy, inhibitory effect of the accompanying flora and the secretory state of ABH antigens in saliva. All of them underwent nasopharyngeal exudate and a saliva sample was taken. In addition, the parents were surveyed

about the risk factors to be investigated. 6.9 % of meningococcal carriers were found and the NA:NT:P1:NST:L3,7,9 strains predominated. The risk factors with statistically significant results regarding the condition of carrier *Neisseria meningitidis* were age, acute respiratory infection history, and the presence of *Streptococcus pneumoniae* and *Neisseria lactamica* of the accompanying bacterial flora in the nasopharynx of the children under study.

Subject headings: NEISSERIA MENINGITIDIS / isolated & purification; MENINGITIS MENINGOCOCCAL / epidemiology; MENINGITIS MENINGOCOCCAL / prevention & control; RISK FACTORS; CHILD; SCHOOLS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arrea L, Vázquez J. Portadores de meningococo: un enigma a finales del siglo XX. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000;18:352-5.
- Cartwright K. Meningococcal disease. Meningococcal carriage and disease. England: John Wiley & Sons Ltd;1995; p.115-26.
- Ministerio de Salud Pública. Cuadro Epidemiológico, Dirección Nacional de Epidemiología. Ministerio de Salud Pública, 2000.
- Martínez MI, Matute I, Gutiérrez MV, Núñez N, Sotolongo PF, García D, et al. Ensayo de un diseño metodológico para la búsqueda de portadores de *Neisseria meningitidis*. *VacciMonitor* 1999;8(12):2-9.
- Zamora ML, Martínez MI, Gutiérrez MV, Núñez N, Ginebra M, Climent Y, et al. Serogrupos, sero/subtipos inmunotipos y susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores. *VacciMonitor* 2002;11(1):1-4.
- Álvarez GN, Martínez MI, Sotolongo PF, Gutiérrez MV, Zamora ML, Izquierdo L, et al: *Neisseria meningitidis* carriers in a day care center in the city of Havana. En: Caugant D, Wedge E, editors. Proceeding of the 13th International Pathogenic *Neisseria* Conference, September 1-6; Oslo, Norway. Division of Infectious Disease Control 2002.Oslo, Norway. p.329.
- Martínez I. *Neisserias y Moraxella*. En: Llop A, Valdés – Dapena M, Zuazo JL. Editores. Microbiología y Parasitología Médicas. T.1. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 2001. p.217-38.
- Abdullahi H, Poolman JT. Whole cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. *FEMS Microbiol Letters* 1987;48:367-71.
- Koneman EW, Allen SD, Dowel VR, Janda MW, Sommers HM, Winn WC. Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas color. 3ed. México:Ed. Médica Panamericana; 1997; p.158-9.
- Mallory D. Immunohematology methods. American Red Cross. Rockville MD;1993:3-11.
- Caugant DA, Hoiby EA, Magnus P, Scheel O, Hoel T, Bjune G, et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in a randomly sampled population. *J Clin Microbiol* 1994;32(2):323-30.
- Fontanals D, Van Esso D, Pons I, Pineda V, Sanfeliu J, Mariscal D, et al. Estudio de la prevalencia de portadores de *Neisseria meningitidis* en la población de Cerdanyola (Barcelona). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995;13:398-405.
- Stuart JM, Cartwright KA, Robinson PM, Noah ND. Effect of smoking on meningococcal carriage. *Lancet* 1989;2:723-5.
- Starwell Smith RE, Stuart JM, Hughes AO, Robinson P, Griffin MB, Cartwright K. Smoking the environment and

- meningococcal disease: a case control study. *Epidemiol Infect* 1994;112:315-28.
15. Olcen P, Kjellander J, Danielson D, Lindquist BL. Epidemiology of *Neisseria meningitidis*: prevalence and symptoms from the upper respiratory tract in family members to parents with meningococcal disease. *Scand J Infect Dis* 1981;13:105-9.
 16. Olcen SF, Djurhours B, Rasmussen K, Joensen HD, Larsen SO, Zoffman H, *et al.* Pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in households with infants within areas with high and low incidences of meningococcal disease. *Epidemiol Infect* 1991;106:443-57.
 17. Oliver KJ, Reddin KM, Bracegirdle P, Hudson MJ, Barrow R, Feavers IM, *et al.* *Neisseria lactamica* protects against experimental meningococcal infection. *Infect Immun* 2002;70:3621-6.
 18. Blackwell C, Jonsddotir K, Hanson M, Tood WTA, Chaudhuri AKR, Mathwes B, *et al.* Non secretor of ABO antigens predisposing to infection by *Neisseria meningitidis* and *streptococcus pneumoniae*. *Lancet* 1986;2:245-6.
 19. Keller R, Dinkel KC, Christ SU, Fischbach W. Interaction between ABH blood group O, Lewis (B) blood group antigen, *Helicobacter pylori* infection and occurrence of peptic ulcer. *Z Gastroenterol* 2002;40(5):273-6.
 20. Alea GV, Martínez MI, Sotolongo PF, Núñez N, Gutiérrez MV, Zamora ML, *et al.* Phenotypes of *Neisseria meningitidis* strains isolated in Cuba 1982-2001. En: Caugant D, Wedege E, editors. *Proceeding of the 13 th International Pathogenic Neisseria Conference*, September 1-6; Oslo, Norway. Division of Infectious Disease Control 2002. p.328.

Recibido: 28 de abril de 2003. Aprobado: 4 de julio de 2003.
 Dra. Isabel Martínez. Instituto Finlay. Centro de Investigación-
 Producción de Vacunas. Avenida 27 No. 19805, La Lisa. AP
 16017, CP 11600, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7) 208
 6075; Teléfono: (53-7) 202 0986.

Portadores de Neisseria meningitidis en un círculo infantil de Ciudad de La Habana

Isabel Martínez Motas, Niurka Álvarez García, Franklin Sotolongo Padrón,
Luis Izquierdo Pérez, Niury Nuñez Gutiérrez

Resumen

Introducción: Aunque la incidencia de enfermedad meningocócica en Cuba es muy baja, detectar la prevalencia y características de las cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores, contribuye al conocimiento de la epidemiología de esta enfermedad.

Objetivos: Conocer la prevalencia de portadores de *N. meningitidis*, los posibles factores de riesgo asociados y los marcadores epidemiológicos de las cepas aisladas.

Pacientes, materiales y métodos: Se realizó un estudio transversal descriptivo en 160 niños del Círculo Infantil "Canto a la Esperanza" de Ciudad de La Habana, previa autorización del Comité de Ética del Instituto Finlay, Dirección Municipal de Educación, Dirección Municipal de Salud Pública y el consentimiento informado de los padres. Además, éstos llenaron una encuesta donde respondieron sobre los factores de riesgo investigados. A los niños se les tomó exudado de la nasofaringe posterior e inmediatamente se inoculó en medio selectivo para *N. meningitidis*, *Haemophilus* y en Agar Cerebro Corazón más sangre de carnero al 5%. La identificación de los microorganismos aislados se realizó mediante técnicas convencionales y el sistema API NH (bioMérieux). *N. meningitidis* se seroagrupó por aglutinación en lámina; los sero/subtipos/inmunotipos se determinaron por ELISA de células enteras con anti-

cuerpos monoclonales. Para determinar la sensibilidad de los aislamientos de *N. meningitidis* frente a la penicilina, se determinó la CMI por el método de dilución en agar.

Resultados: El 4,3% resultó portador de meningococo, entre éstos, el 71,4% tenía 4 años de edad y el 85,7% era del sexo masculino. Predominaron las cepas de *N. meningitidis* NA:NT:P1.6:L3,7,9 (71,5%) y moderadamente resistentes a la penicilina (85,7%). Se detectó un porcentaje elevado de *Haemophilus influenzae* (92,5%), *Streptococcus pneumoniae* (77,5%) y *Neisseria lactamica* (47,5%). No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los portadores de *N. meningitidis* y los factores de riesgo investigados.

Conclusiones: El porcentaje de portadores de meningococo estuvo dentro de los límites descritos en la literatura para este grupo de edad.

Palabras claves: *Neisseria meningitidis*, portador, prevalencia, factores de riesgo, penicilina.

Abstract

Introduction: Although the incidence of meningococcal disease in Cuba is very low, the detection of the prevalence and characteristics of *Neisseria meningitidis* strains isolated from carriers contributes to a better knowledge of the disease epidemiology.

Objectives: To study the prevalence of carriers, the possible carrier-associated risk factors and the epidemiological markers of the isolated strains.

Patients, materials and methods: A transverse descriptive study was carried out in 160 children from the "Canto a La Esperanza" nursery in the City of Havana, after previous authorisation from the Ethics Committee of the Finlay Institute, Municipal Direction of Education, Municipal Public Health Direction and the informed consent of the parents. Besides, these filled in a form whe-

Recibido para publicación el 12/08/03.

Dirección Postal:

Dra. Isabel Martínez Motas
Instituto Finlay, Avenida 27 N° 19805, La Coronela,
La Lisa, Ciudad de La Habana, Cuba
A.P.16017. C.P.11600
Teléfono: (537) 2711046 - Fax: (537): 336753
E-mail: isamartinez@finlay.edu.cu

ReQAL

Reseñas en Quimioterapia
Antimicrobiana Latinoamericana

re they answered questions related to the risk factors under study. Rear nasopharyngeal swabs were done, which were immediately inoculated in a selective medium for *N. meningitidis*, *Haemophilus* and Brain Heart Agar plus 5% sheep blood. The identification of the isolated microorganism was done by conventional technique and the API NH system (*bioMérieux*). *N. meningitidis* was serogrouped by slide agglutination, the sero/subtype determination was made by whole – cell ELISA with monoclonal antibodies and penicillin susceptibility was determined by agar dilution.

Results: The meningococcal carriers were 4,3%, among which 71,4% were 4 years old and 85,7% were male. The predominating *N. meningitidis* strains were NA:NT:P1.6:L3, 7,9 (71,5%). They showed moderate susceptibility to penicillin (85,7%). High percentage of *Haemophilus influenzae* (92,5%), *Streptococcus pneumoniae* (77,5%) and *Neisseria lactamica* (47,5%) were found and there were no significant statistical differences among the *N. meningitidis* carriers according to risk factors.

Conclusions: The percentage of meningococcal carriers was within the limits described for this age group

Key words: *Neisseria meningitidis*, carrier, prevalence, risk factors, penicillin.

Introducción

Los estudios de portadores de *Neisseria meningitidis* se reportan desde 1890 y desde ese momento reconocen su utilidad e importancia. El papel que desempeñan los portadores de meningococo y la relación entre éstos e individuos con cuadros clínicos invasivos, no está totalmente bien definido. Se demuestra que la presencia de este microorganismo en la nasofaringe humana, constituye un elemento inmunizante capaz de generar anticuerpos bactericidas. Sin embargo, los portadores constituyen probablemente el principal vehículo de transmisión de la enfermedad meningocócica (EM).¹ Es por esto que conocer las características del portador de *N. meningitidis* permitirá: comprender mejor la epidemiología de la EM, hacer una mejor selección para la administración de quimioprolácticos entre los contactos y demostrar el efecto de la vacunación entre las poblaciones inmunizadas.²

En etapas no epidémicas, los estudios de portadores de meningococo se realizan fundamentalmente en escolares, soldados, o contactos íntimos de casos clínicos.³ Entre éstos, los estudios transversales permiten detectar su prevalencia en un momento y lugar determinado. Resulta también de interés, en este tipo de investigación, la búsqueda de variables o factores de riesgo que favore-

cen la colonización de *N. meningitidis* en la nasofaringe de los individuos sanos.⁴

La obtención e incorporación de la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC®, compuesta por vesícula de proteínas de la membrana externa de *N. meningitidis* serogrupo B y el polisacárido capsular del C, al Programa Cubano de Inmunización y la amplia cobertura alcanzada con éste, juegan un papel decisivo en el control y reducción de la EM en Cuba. Actualmente, la incidencia presenta cifras muy bajas, similares a las del período pre - epidémico (5). Después del impacto alcanzado por la aplicación de VA-MENGOC-BC® en la población infantil cubana y haber transcurrido 12 años de su incorporación al Programa de Inmunización, es importante realizar estudios de portadores de *N. meningitidis* en grupos de riesgo; los resultados obtenidos aportarán datos valiosos a la vigilancia epidemiológica y microbiológica de la EM en nuestro país.

Pacientes, materiales y métodos

De un universo de 219 niños, entre 8 meses y 6 años de edad, que asistían al Círculo Infantil “Canto a la Esperanza” de Ciudad de La Habana, 160 cumplieron los criterios establecidos para participar en este estudio transversal descriptivo realizado durante los meses de marzo a junio del 2001. Previo a su realización, se obtuvo la aprobación del Comité de Ética del Instituto Finlay, Dirección Municipal de Educación y Dirección Municipal de Salud Pública. Además, los padres dieron su consentimiento informado por escrito y llenaron un cuestionario sobre las variables y objetivos de este trabajo.

Se tomaron en cuenta criterios de inclusión y exclusión. Se incluyeron los niños sanos de ambos sexos, de 8 meses a 6 años de edad, matriculados en el Círculo Infantil “Canto a La Esperanza” y cuyos padres manifestaron el consentimiento escrito de participación. Se excluyeron los niños que recibieron antimicrobianos 7 días antes de la toma de muestra, o estuvieran bajo tratamiento inmunosupresor u otro medicamento que modificara su estado inmunológico. Se excluyeron también, los niños cuyos padres no manifestaron el consentimiento escrito de participación.

Las variables investigadas fueron cualitativas y cuantitativas. Dentro de las cualitativas se incluyeron: sexo, hacinamiento (si en el dormitorio del niño dormía un número de personas mayor a tres), antecedente de infección respiratoria aguda (IRA), fumador pasivo (sí el niño convivía con, al menos, un fumador), amigdalectomía y el posible efecto inhibitorio de la flora bacteriana acompañante de la nasofaringe. Entre las cuantitativas se tuvo en cuenta la edad (años).

Las muestras se obtuvieron en el propio círculo infantil, con la ayuda de un depresor lingual estéril. Se tomó exudado de la nasofaringe posterior y amígdalas con hisopo estéril e inmediatamente éste se sembró en:

- Agar Mueller Hinton (Merck) más suero fetal bovino (HyClone) y VCN (vancomicina 3 mg/ml, nistatina 120 mg/ml, colistina 750 mg/ml, (*bioMérieux*), para aislamiento de especies pertenecientes al género *Neisseria*;
- Agar Infusión Cerebro Corazón (Merck) más Hemi-na (Fluka), NAD (Difco) y Bacitracina (Oxoid), para el aislamiento de *Haemophilus* y
- Agar Infusión Cerebro Corazón (Merck) más sangre de carnero desfibrinada al 5% para el aislamiento e identificación del resto de los microorganismos estudiados.

Las muestras se trasladaron, en un lapso de tiempo no mayor de 2 horas, al Laboratorio de Microbiología de la Dirección de Asistencia Científico Técnica Aplicada (DACTA) del Instituto Finlay. En el laboratorio, las placas se estiraron e incubaron a 37°C en atmósfera húmeda con 5% de CO₂, realizándose la lectura a las 24 y 48 horas de incubación. La identificación de los microorganismos pertenecientes a los géneros *Neisseria*, *Moraxella* y *Haemophilus*, se realizó por métodos convencionales^{6,7} y el sistema API NH (*bioMérieux*). Las seroagrupación de cepas de *N. meningitidis* se realizó por aglutinación en lámina con antisueros específicos de grupo: A, B, C, X, Y, Z, W135 (Difco) y para determinar los sero/subtipos e inmunotipos, se utilizó el ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM).⁸ Para el sero/subtipaje se emplearon los AcM del paquete comercial del Instituto Nacional de Investigaciones para el Hombre y el Ambiente de Holanda (RIVM) y para el inmunotipaje, los AcM (L3,7,9; L8 y L10), producidos por el Instituto Nacional para el Control Biológico y Estándares del Reino Unido (NIBSC).

Las colonias de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus* β -hemolítico grupo A, se identificaron por métodos convencionales⁷ y, posteriormente, se confirmaron por aglutinación con Látex (Slidex Strepto - Kit, Slidex pneumo - Kit y Staphyslide - Test, *bioMérieux*).

La sensibilidad a la penicilina se determinó por el método de dilución en agar, según las recomendaciones del Comité Nacional de Estándares de Laboratorios Clínicos (NCCLS, *National Committee for Clinical Laboratory Standards*).⁹ Se utilizó Agar Mueller Hinton (Merck) más sangre de carnero desfibrinada al 5%. Se emplearon diluciones dobles de penicilina (Difco), desde 0,002 a 2 mg/ml. Las cepas se interpretaron como: sensibles (CMI $\leq$ 0,06 μ g/ml), sensibilidad disminuida (CMI = 0,12 - 1 μ g/ml) y resistentes (CMI $\geq$ 2 mg/ml). Se utilizó como control la cepa de *S. aureus* ATCC 29213.

En el análisis estadístico se empleó el paquete SPSS, versión 10 para Windows. Siempre que los datos lo permitieron, se utilizó el test Chi cuadrado o el test exacto de Fisher para detectar asociaciones entre la variable *N. meningitidis* y el resto de las variables. Para la variable *N. meningitidis* y edad, se empleó el test *t* - Student. Para todas las comparaciones se empleó un nivel de significación del 0,05.

Resultados

La distribución de los niños según la edad y el sexo se refleja en la Tabla I. En los 160 exudados nasofaríngeos realizados, *N. meningitidis* se aisló en 7 niños (4,3%). Entre éstos, mostraron los porcentajes más altos, los niños de 4 años (71,4%) y pertenecientes al sexo masculino (Tabla II). No existió relación estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre los portadores de meningococo, la edad y el sexo.

Todas las cepas de *N. meningitidis* resultaron no agrupables (NA). Respecto a la clasificación de sero/subtipos e inmunotipos, 5 cepas fueron fenotípicamente idénticas

Tabla I
Distribución según edad y sexo de los niños investigados.
Círculo Infantil "Canto a La Esperanza". La Habana, 2001

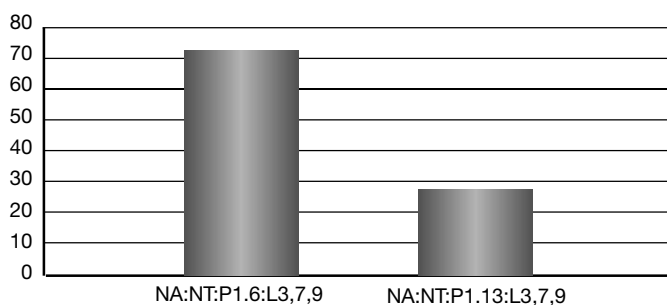
Edad (años)	Sexo		%
	Femenino	Masculino	
< 1 año	1	-	0,6
1 - 2	22	21	26,8
3 - 4	38	43	50,7
5 - 6	18	17	21,9
Total	79	81	100

ReQAL

Reseñas en Quimioterapia
Antimicrobiana Latinoamericana

Tabla II
Portadores de *N. meningitidis* según edad y sexo.
Círculo Infantil "Canto a La Esperanza". La Habana, 2001

Edad	Portadores <i>N. meningitidis</i>		Total No. (%)
	Fem. Nº (%)	Masc. Nº (%)	
2 años	-	1 (14,3)	1 (14,3)
4 años	1 (14,3)	4 (57,1)	5 (71,4)
5 años		1 (14,3)	1(14,3)
Total	1(14,3)	6 (85,7)	7 (100)



NA= No agrupales; NT= No tipables

Figura 1. Fenotipos de cepas de *N. meningitidis*. Círculo Infantil "Canto a La Esperanza". La Habana, 2001

Tabla III
Otros microorganismos aislados de la nasofaringe.
Círculo Infantil "Canto a La Esperanza". La Habana, 2001

Microorganismos	Nº	%
<i>Haemophilus</i> spp	148	92,5
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	124	77,5
<i>Neisseria lactamica</i>	76	47,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	3,7
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6	3,7
<i>Streptococcus</i> β-hemolítico A	4	2,5
<i>Streptococcus</i> β-hemolítico C	2	1,2
<i>Streptococcus</i> β-hemolítico G	1	0,6
<i>Pseudomonas</i> spp	1	0,6

(NA:NT:P1.6:L3,7,9) y en las dos restantes (28,5%), la diferencia radicó en el subtipo (NA:NT:P1.13:L3,7,9) (Figura 1).

Predominaron las cepas de *N. meningitidis* con sensibilidad disminuida a la penicilina (85,7%). Entre éstas, 4 se inhibieron con una CMI = 0,125 mg/ml (57,1%); 2 mostraron una CMI = 0,25 mg/ml (28,6%) y sólo 1 cepa (14,3%) resultó sensible CMI = 0,06 mg/ml. La Tabla III muestra el resto de los microorganismos que for-

maron parte de la flora bacteriana nasofaríngea. Los porcentajes más elevados de aislamiento correspondieron a: *Haemophilus* spp (92,5%), *S. pneumoniae* (77,5%) y *Neisseria lactamica* (47,5%). Mientras que la Tabla IV presenta la asociación de *N. meningitidis* con el resto de las bacterias identificadas. La asociación más frecuente de *N. meningitidis* fue con *Haemophilus* spp y *S. pneumoniae*. Este resultado no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Tampoco hubo

Tabla IV
Asociación entre *N. meningitidis* y otros microorganismos detectados.
Círculo Infantil "Canto a La Esperanza". La Habana, 2001

Microorganismos	Casos
<i>Neisseria meningitidis</i> + <i>Haemophilus</i> spp + <i>Streptococcus pneumoniae</i>	3
<i>Neisseria meningitidis</i> + <i>Haemophilus</i> spp + <i>Streptococcus</i> b hemolítico A	1
<i>Neisseria meningitidis</i> + <i>Haemophilus</i> spp + <i>Streptococcus</i> b hemolítico C	1
<i>Neisseria meningitidis</i> + <i>Haemophilus</i> spp	1
<i>Neisseria meningitidis</i> + <i>Moraxella catarrhalis</i>	1
Total	7

diferencias estadísticamente significativas cuando se analizó el estado de portador de meningococo con el resto de los factores de riesgo investigados (hacinamiento, fumador pasivo, amigdalectomía).

Discusión

Los estudios de prevalencia de portadores de *N. meningitidis* en niños pequeños (0 – 5 años), no son frecuentes. Fontanals, en su trabajo sobre la prevalencia de portadores de meningococo en la población de Cerdanyola, Barcelona, España,¹⁰ señala la incidencia más baja (4,5%) en el grupo de 0 – 3 años, cifra similar a la nuestra. Otro estudio también realizado en España, investiga la presencia de *N. meningitidis* y *N. lactamica* en escolares de Galicia con 5 – 19 años de edad. Sus autores no incluyeron niños menores de 5 años aludiendo que trabajos realizados con antelación en esa región, no detectan la existencia de portadores de meningococo en este grupo de edad.¹¹ El bajo porcentaje de portadores de *N. meningitidis* en los niños del Círculo Infantil “Canto a La Esperanza” pudiera estar influenciado por el hecho de que, desde 1991, la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC® está incluida en el Programa Cubano de Inmunización.¹² Recientemente, realizaron un estudio de portadores de *N. meningitidis* en 318 niños de 5 a 12 años que asisten a una escuela primaria de Ciudad de La Habana¹³ y entre éstos, el 6,9% resultó portador de meningococo, cifra ligeramente superior a la nuestra.

Situación totalmente diferente se detecta en Cuba durante la epidemia de EM por *N. meningitidis* serogrupo B. En esa etapa epidémica, el 11,6% de los niños que asisten a un círculo infantil de Artemisa, Provincia Habana, resultaron portadores de meningococo.¹⁴ Aunque no existió diferencia estadísticamente significativa entre el sexo y los portadores de *N. meningitidis*, la mayoría perteneció al sexo masculino. Fonta-

nals señala entre los varones, un riesgo significativamente mayor.¹⁰ Sin embargo, Parodi en Uruguay,¹⁵ encuentra la mayor prevalencia de portadores entre las niñas y Ronne en Dinamarca, no detecta diferencias significativas entre el sexo y los portadores de meningococo.¹⁶

Actualmente, la incidencia de EM en Cuba presenta un comportamiento no epidémico, situación que pudiera explicar por qué todas las cepas de *N. meningitidis* aisladas resultaron NA. Además, si se tiene en cuenta que el trabajo se realizó en niños ya inmunizados con VA-MENGOC-BC®, se podría justificar el predominio de cepas NA y la ausencia de los serogrupos B y C. Otros estudios realizados en Cuba durante esta etapa no epidémica reportan el predominio de cepas NA.^{13,17,18} Trabajos realizados en otros países, también señalan una mayor prevalencia de cepas con estas características entre los portadores de *N. meningitidis*.^{15,19}

En nuestro estudio prevaleció el fenotipo NA:NT: P1.6:L3,7,9 contrastando así, con el resultado de las cepas de portadores aisladas en Cuba durante la epidemia, momento en el que se detecta un franco predominio de cepas B:4:P1.19,15:L3,7,9.²⁰

Al analizar los factores de riesgo se observó que, a pesar de no existir condiciones de hacinamiento en las viviendas de los niños investigados, casi todos los portadores de *N. meningitidis* pertenecieron a niños del quinto año de vida, cuya matrícula (54 niños) en el Círculo Infantil “Canto a La Esperanza”, excedía los parámetros establecidos. Está regulado que, el total de niños por grupo, no debe ser superior a 30. Al existir un exceso de matrícula, los niños tuvieron una mayor posibilidad de contacto durante su permanencia en la Institución (aproximadamente 8 horas diarias).

En el resto de las variables o factores de riesgo investigados, tampoco existieron resultados con diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, un nú-

ReQAL

Reseñas en Quimioterapia
Antimicrobiana Latinoamericana

mero elevado de niños convivía con personas fumadoras. Blackwell señala un mayor riesgo para los hijos de madres fumadoras²¹ y Fontanals refiere que, por cada 10 cigarrillos consumidos al día, existe un riesgo superior al 45%, aunque no detecta, en su trabajo, asociación significativa entre los portadores de *N. meningitidis* y el fumador pasivo.¹⁰

Se sabe que la nasofaringe humana constituye un reservorio natural para algunas bacterias como *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes* y *N. meningitidis*. Por su alto contenido en bacterias vivas, la saliva de los individuos sanos ejerce un efecto inhibitorio para *N. meningitidis*, mientras que, en el mucus nasal no sucede igual. Esta condición podría explicar por qué este microorganismo habita preferentemente en la nasofaringe posterior.²² Detectar bacterias potencialmente patógenas en los individuos sanos resulta de extraordinario valor y, a pesar que se trabaja mucho en este sentido, la actividad resulta compleja. A este nivel, la flora bacteriana está compuesta por microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, lo que, unido a la carencia de métodos de laboratorio que permitan reproducir y cuantificar a la mayoría de éstos, hacen extremadamente difíciles los estudios de interacción entre *N. meningitidis* y el resto de los microorganismos que componen la flora nasofaríngea.⁴

Entre los niños del Círculo Infantil "Canto a La Esperanza", *N. meningitidis* no se asoció a *N. lactamica*. Se plantea que los portadores de *N. lactamica* son más frecuentes en los niños pequeños y que su presencia en la nasofaringe disminuye a medida que aumenta la edad.²³ También sugieren su posible efecto protector y asociación con la formación de anticuerpos bactericidas contra *N. meningitidis*. Esta propiedad hace que *N. lactamica* se valore como candidato vacunal contra la infección meningocócica.²⁴

La simultaneidad de aislamientos bacterianos en un mismo niño sugiere que algunos microorganismos pueden frecuentemente incrementar el riesgo de colonización por otros patógenos potenciales.²⁵

La sensibilidad de *N. meningitidis* a la penicilina adquiere en los últimos años gran importancia clínica, debido al reporte de cepas con resistencia moderada a este antibiótico. Antes de la década del 80, apenas existe la notificación de cepas con estas características. Sin embargo, tras la detección en España, de la primera cepa con resistencia moderada, muchos países reportan este fenómeno.²⁶ La resistencia se debe, al menos en parte, a una disminución de afinidad por la penicilina de las PBP2 (proteínas fijadoras de la penicilina 2), descenso que también se detecta en neisse-

rias comensales de la nasofaringe. Estudios genéticos poblacionales atribuyen la aparición de estas cepas a procesos de recombinación, capaces de sustituir partes del gen PBP2, por las correspondientes regiones del gen de estas neisserias saprófitas.²⁷

En el trabajo de Fontanals,¹⁰ el 42% de las cepas muestran una CMI entre 0,12 – 0,5 mg/ml y aunque al serogrupo C corresponden las de mayor resistencia, las NA representan el 35% de las cepas de *N. meningitidis* aisladas entre los portadores de Cerdanyola. Fontanals se refiere a que, a pesar del porcentaje de portadores de meningococo de España (5 – 10%), el enorme uso de la penicilina en esa comunidad y los bajos niveles de este antimicrobiano en la saliva, resulta sorprendente que la resistencia de *N. meningitidis* a la penicilina haya tardado tanto tiempo en aparecer. En aislamientos de gonococos y neumococos esta resistencia se presenta con antelación, en 1958 y 1977 respectivamente.¹⁰

La sensibilidad disminuida a la penicilina la detectan también en Canadá,²⁸ Gran Bretaña²⁹ y Argentina,³⁰ por citar algunos países. En el año 2000 realizan en España, un estudio de sensibilidad antimicrobiana de 901 cepas de *N. meningitidis*. De de éstas, 789 corresponden a portadores y en el 39% detectan resistencia moderada a la penicilina.³²

El Laboratorio Nacional de Referencia de Meningococo de Cuba, realiza estudios de sensibilidad antimicrobiana desde 1986. En 253 cepas aisladas de enfermos entre 1990 – 1992, el 5,6% de las cepas de *N. meningitidis* analizadas presentan sensibilidad disminuida a la penicilina.³³ Posteriormente, otro estudio de 682 cepas aisladas también de casos clínicos, muestra el 16,3%³⁴ y en 90 cepas de portadores del año 1998, el porcentaje de cepas con sensibilidad disminuida a la penicilina resultó ligeramente superior (17,8%).³⁵

Se puede concluir que, en este trabajo, el porcentaje de portadores de *N. meningitidis* estuvo entre los límites descritos en la literatura para este grupo de edad. Predominaron las cepas NA:NT:P1.6:L3,7,9 y con sensibilidad disminuida a la penicilina. No existieron diferencias estadísticamente significativas entre los portadores de meningococo y los factores de riesgo investigados y en un número elevado de niños se detectó *Haemophilus* spp, *S. pneumoniae* y *N. lactamica*.

La identificación de los marcadores epidemiológicos de cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos y portadores, resulta imprescindible para comprender mejor la epidemiología de la EM y poner en marcha medidas de protección útiles para su control.

Bibliografía

- Broome C. The carrier state: *Neisseria meningitidis*. *J Antimicrob Chemother* 1986; 18 Supl A:25-34.
- Nicolas P, Debonne J-M, Martet G. *Neisseria meningitidis* et meningitis. *Med Tropicale* 1999; 59(1):59-78.
- Arreaa L, Vázquez J. Portadores de meningococo: un enigma a finales del siglo XX. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18:352-355.
- Cartwright KAV. Meningococcal carriage and disease. En: Cartwright K, editor. *Meningococcal disease*. Chichester, England: John Wiley Sons, Ltd; 1995:115-146.
- MINSAP. Principales indicadores y otros datos de salud. Programa de Prevención y Control de Enfermedades Transmisibles. MINSAP 2000, Ciudad de La Habana, Cuba.
- Martínez MI. *Neisserias* y *Moraxella Catarrhalis*. En Llop A, Valdés - Dapena M, Zuazo JL, editors. *Microbiología y Parasitología Médicas 1ª ed*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas, 2001; p. 197-238.
- Isemberg HD, Baron EJ, D' Amato RF, Johnson RC, Murray PR, Rodgers FG, von Graevenitz A: Recommendations for the isolation of bacteria from clinical specimens. In: Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isemberg HD, Shadomy HJ eds: *Manual of Clinical Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington DC (1991) pp. 216-221.
- Abdillahi H, Poolman JT. Whole-cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. *FEMS Microbiol Lett* 1987; 48:367-371.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Fifth International Supplement. NCCLS Document M 100-55. NCCLS, Villanova, Pennsylvania, 1994.
- Fontanals D, Van Esso D, Pons I, Pineda V, Sanfeliu I, Mariscal D. Estudio de la prevalencia de portadores de *Neisseria meningitidis* en la población de Cerdanyola (Barcelona). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13:398-405.
- Fernández S, Arreaa L, Santiago I, Malvar A, Berrón S, Vázquez JA et al. *Gaceta Sanitaria* 1999; 13 (90):9217.
- Valcarcel M, Rodríguez R, Terry H. La enfermedad meningocócica en Cuba. Cronología de una epidemia. Ciudad Habana. ECIMED. Editorial Ciencias Médicas de Cuba 1991 pp. 319-397.
- Martínez I, López O, Sotolongo F, Zamora L, Bencomo A, Mirabal M. Risk factors for carriage of *Neisseria meningitidis* in a Primary School in Havana. In: *Proceedings 6th Latin American Immunology Congress*. CD-ROM ALAI, Havana, Cuba, 9-13/XII/2002.
- Valcárcel M. Prevalencia de portadores de *Neisseria meningitidis* en escolares y niños del Círculo Infantil del Municipio de Artemisa. Provincia Habana. Trabajo para optar por el Título de Especialista de Primer Grado de Epidemiología. Ciudad de La Habana 1979.
- Parodi V, Allende F, Torres E, Macedo M, Maglione R, Algorta G. Portadores de *N. meningitidis* en una población de Montevideo. *Rev Med Uruguay* 1998; 14(3):221-225.
- Ronne T, Berthelsen L, Buhl LH, Lind I. Comparative studies of pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* during a localized outbreak of serogroup C meningococcal disease. *Second J Infect Dis* 1993; 25:331-339.
- Martínez MI, Matute I, Gutiérrez VM, Nuñez N, Sotolongo PF, García D et al. Ensayo de un diseño metodológico para la búsqueda de portadores de *Neisseria meningitidis*. *VaccinMonitor* 1999; 8(12):2-9
- Zamora ML, Martínez MI, Gutiérrez VM, Nuñez N, Ginebra M, Climent Y et al. Serogrupos, sero/subtipos, inmunotipos y susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores. *VaccinMonitor* 2002; 11(1):1-4.
- Caugant DA, Hoiby EA, Mahnus P, Scheel O, Hoel T, Bjune et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in a randomly sampled population. *J Clin Microbiol* 1994; 32:323-330.
- Epidemiological markers of epidemic strains of *Neisseria meningitidis* isolated in Cuba. In Abstracts of the 13 th International Pathogenic Neisseria Conference (IPNC). Oslo, Noruega, Sep. 1-6, 2002. Editors Dominique A. Caugant, Elisabeth Wedege pp: 348.
- Blackwell CC, Weir DM, James US, Todd WTA, Benatvala N, Chadhuri AKR et al. Secretor status, smoking and carriage of *Neisseria meningitidis*. *Epidemiol Infect* 1990; 104:203-209
- Olsen SF, Djurhuus B, Rasmussen K, Joensen HD, Larsen SO, Zoffman H et al. Pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in households with infants within areas with high and low incidences of meningococcal disease. *Epidemiol Infect* 1991; 106:443-457.
- García A, Bordes A, Lafarga B, Vazquez J, López E, García PO y col. Encuesta de portadores de *N. meningitidis* en el Área de Salud de Gran Canaria. *Rev Esp Salud Pública* 1998; 74:419-42 4.
- Oliver KJ, Reddin KM, Bracedirdle P, Hudson MJ, Barrow R, Feavers IM et al. *Neisseria lactamica* protects against experimental meningococcal infection. *Infect Immun* 2002; 70:3621-3626.
- Montgomery J, Lehman D, Smith T, Michael A, Joseph B, Luperra T, et al. Bacterial colonisation of the upper respiratory tract and its association with acute lower respiratory tract infection in highland children of Papua New Guinea. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (Suppl 8):1006-1016.
- Saéz Nieto JA, Vázquez JA. Moderate resistance to penicillin in *Neisseria meningitidis*. *Microbiología SEM* 1997; 13:337-342.
- Bowler LD, Zhang Q, Riou JY, Sprat BG. Interspecies recombination between the penA genes of *Neisseria meningitidis* and comensal *Neisseria* species during the emergence of penicillin resistance in *Neisseria meningitidis*: natural events and laboratory simulation. *J Bacteriol* 1994; 4:913-919.
- Blondeau JM, Yaschuk Y. *In vitro* activities of ciprofloxacin, cefotaxime, ceftiraxone, chloramphenicol, and rifampin against fully susceptible and moderately penicillin-resistant *Neisseria meningitidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:2577-2579.
- Sutcliffe EM, Jones DM, El-Sheikh S, Percival A. Penicillin-insensitive meningococci in the U.K. *Lancet* 1998; i:657-658.
- Lopardo H, Santander C, Ceinos MC, Ruboglio EA. Isolation of moderately penicillin susceptible strains of *Neisseria meningitidis* in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1728-1729.
- Arreaa L, de la Fuente L, Vázquez JA. Antibiotic susceptibility patterns of *Neisseria meningitidis* isolates from patients and asymptomatic carriers. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44:1705-1707.
- Tzanakaki G, Blackwell C, Kremastinou J, Kallergi C, Kouppari G, Weir DM. Antibiotic sensitivities of *Neisseria meningitidis* isolates from patients and carriers in Greece. *Epidemiol Infect* 1992; 108:449-445.
- Patton AS, Martínez I, Valdés E, Sosa J, Llanes R, Palma S. Estudio de la susceptibilidad de *Neisseria meningitidis* a diferentes antimicrobianos (enero 1990-diciembre 1992). *Bol Soc Venezolana Microbiol* 1995; 15(1): 16-19.
- Martínez I, Patton AS, Valdés E, Palma S, Llanes R, Sosa J et al. Estudio longitudinal de la sensibilidad por concentración mínima inhibitoria en cepas de *Neisseria meningitidis*. *Enferm Infecc y Microbiol* 1996; 16(2):74-79.
- Martínez I, García D, Sotolongo F, Gutiérrez M, Matute I, Nuñez Ny col. Susceptibilidad a agentes antimicrobianos de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas en portadores. *VaccinMonitor* 2000; 9(2):7-13. p

INSTITUTO FINLAY

Inmunogenicidad inducida por la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC® contra la cepa de *N. meningitidis* ATCC C11 en adolescentes después de 12 años de vacunados

Dra. María A. Camaraza,¹ Dr. Rolando Ochoa,² Téc. Aida G. Arnet,³ Dr. Franklin Sotolongo,⁴ Dra. Isabel Martínez,⁵ Dr. Iván Cuevas⁶ y Lic. Dairis Hernández⁷

RESUMEN

Se estudió la respuesta de anticuerpos inducida por la vacuna antimeningocócica cubana VA-MENGOC-BC® contra la cepa ATCC C11 mediante Ensayo Bactericida del Suero y ELISA, a 184 adolescentes de un Politécnico de Ciego de Ávila, que habían sido inmunizados en campañas masivas 12 años antes. Se realizaron extracciones de sangre antes de aplicar la primera dosis (T₀), 4 semanas después de esta (T₁) y 4 semanas después de la segunda dosis (T₂). Después de 12 años de la vacunación, 25 % de los adolescentes presentó títulos bactericidas ³ 1:8 frente a la cepa evaluada. Por ELISA, 78 % mostró una concentración de anticuerpos superior al límite de detección contra el polisacárido capsular del meningococo C. Los porcentajes de seroconversión posterior a la primera dosis fueron 59 por Ensayo Bactericida del Suero y 82 por ELISA. No hubo diferencias significativas (p > 0,05) entre los resultados obtenidos después de la primera y segunda dosis por ambos ensayos. La reinmunización con 2 dosis de la vacuna no provocó hiporrespuesta frente a la cepa ATCC C11 en este grupo de edad.

DeCS: TEST INMUNOLOGICOS; MENINGITIS MENINGOCOCICA; NEISSERIA MENINGITIDIS/ aislamiento&purificación; ELISA; MEMORIA INMUNOLOGICA; VACUNAS/ inmunología.

La enfermedad meningocócica (EM) representa un serio problema de salud en el ámbito mundial.¹ A pesar de los avances alcanzados en el diagnóstico, la disponibilidad de antibióticos y de las mejoras en las unidades de terapia intensiva, uno de cada 10 pacientes con EM invasiva y de 20 a 40 % de los que desarrollan *shock* séptico aún mueren.²

Neisseria meningitidis, bacteria gramnegativa, constituye el agente etiológico de esta enfermedad. Los serogrupos A, B y C de *N. meningitidis* causan el mayor número de casos clínicos de EM.³

Las estrategias fundamentales encaminadas a la prevención de la EM son la quimioprofilaxis y la inmunoprofilaxis, la última constituye el medio por excelencia para este fin. Durante mucho tiempo esta estuvo limitada a los serogrupos A, C, Y y W135, con las vacunas desarrolladas en EE. UU. y Francia.⁴

Debido a la carencia de una vacuna eficaz contra el serogrupo B y por constituir la EM el principal problema de salud en Cuba durante la década de los años 80, entre los años 1982-1988, se desarrolló en Cuba una vacuna antimenin-

¹ Máster en Microbiología Clínica. Investigadora Auxiliar.

² Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Titular.

³ Técnico en Microbiología.

⁴ Especialista de II Grado en Microbiología. Profesor Asistente.

⁵ Especialista de II Grado en Microbiología. Investigadora Titular.

⁶ Máster en Salud Pública. Especialista de I Grado en Epidemiología.

⁷ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas.

gocócica contra los serogrupos B y C (VA-MENGOC-BC®) (Campa C, Sierra G. Vacuna contra la enfermedad meningocócica de los grupos B y C. Centro Nacional de Vacuna Antimeningocócica. MINSAP-CUBA. 1989). En 1989, se registra y comienza su aplicación en Cuba en forma de campaña. Posteriormente, en 1991, se incorpora al Programa Nacional de Inmunización para ser aplicada a la población infantil, al cumplir los 3 meses de edad la primera dosis y la segunda a los 5 meses (Aplicación de VA-MENGOC-BC®. Programa Nacional de Inmunizaciones de Cuba. Dirección Nacional de Epidemiología. MINSAP, Ciudad de La Habana, Cuba 1991).

El ensayo bactericida del suero (EBS) está considerado la “prueba de oro” para realizar los estudios de eficacia de vacunas antime-ningocócicas,⁵ teniendo en cuenta que la presencia de anticuerpos bactericidas en el suero, está relacionada de manera inversa con la aparición de la enfermedad.⁶ También se emplean técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) correlacionadas con el EBS por su simplicidad y para facilitar la evaluación de múltiples muestras.⁷

Existen reportes en la literatura donde se plantea que, en niños pequeños, la aplicación de dosis repetidas de vacunas antime-ningocócicas constituidas por polisacárido no conjugado provocan hiporrespuesta.^{8,9} Se han realizado múltiples estudios para evaluar la respuesta inmune en personas vacunadas con la vacuna VA-MENGOC-BC®.¹⁰⁻¹² Pero teniendo en cuenta que uno de los componentes de la vacuna es el polisacárido de una cepa serogrupo C, se considera importante la evaluación de la inducción de hiporrespuesta a este componente ante la aplicación de dosis repetidas; así como el estudio de la respuesta anamnésica inducida por 2 dosis de refuerzo de esta vacuna.

MÉTODOS

Diseño de la investigación: estudio no controlado, prospectivo, abierto para la evaluación de la inmunogenicidad de VA-MENGOC-BC®.

Características de la población estudiada: de un total de 523 estudiantes pertenecientes al Politécnico de Oficios “Rodolfo Ramírez Esquivel” de la Provincia de Ciego de Ávila, se tomaron al

azar la tercera parte de cada grupo. Como los grupos no tenían un tamaño homogéneo, la muestra seleccionada fue de 184 adolescentes sanos, de 15 a 18 años de edad, inmunizados con VA-MENGOC-BC® 12 años antes.

Esquema de vacunación: se aplicó la vacuna antime-ningocócica cubana VA-MENGOC-BC®, siguiendo el esquema de vacunación establecido: 2 dosis de 0,5 mL por vía intramuscular, con un intervalo de 8 semanas entre ambas.

Secuencia de la toma de muestras de sangre: se realizaron 3 extracciones de sangre por vía intravenosa mediante el uso de jeringuillas estériles desechables de 10 mL. La primera muestra fue obtenida antes de administrar la primera dosis (T_0); la segunda 1 mes después de aplicar la primera dosis (T_1) y la tercera, 1 mes posterior a la aplicación de la segunda dosis (T_2). Las muestras de sangre se centrifugaron para la obtención del suero, el cual se conservó a - 20 °C hasta el momento de la realización del EBS y el ELISA.

Cepa utilizada en el EBS: se empleó la cepa homóloga de *N. meningitidis* ATCC C11.

Determinación de la respuesta inmune

EBS: se aplicó el procedimiento descrito por Sotolongo y otros,¹³ siguiendo la metodología del Centro para el Control de Enfermedades (CDC), Atlanta, EE.UU.¹⁴ Esta es una microtécnica basada en la reacción antígeno-anticuerpo mediada por el complemento, donde se puede determinar la capacidad bactericida o lítica del suero humano, al enfrentarlo a una suspensión de meningococo vivo.

Determinación de anticuerpos contra polisacárido capsular del meningococo C (PSC C): se realizó ELISA de tipo indirecto según el método de Nerey y otros;¹⁵ donde los anticuerpos contenidos en la muestra se unen al PSC C acoplados a la fase sólida. Los anticuerpos fueron reconocidos por un conjugado anti IgG humana-fosfatasa alcalina y esta unión se puso en evidencia mediante una reacción enzimática sobre un sustrato que desarrolla color (p-nitrofenil fosfato). A mayor intensidad de color, mayor presencia de anticuerpos en la muestra. Las absorbancias se midieron en un lector de placas ELISA a 405 nm y se transformaron a valores de concentración con un programa desarrollado por el CDC de Atlanta, EE. UU. Los

resultados se expresaron en unidades de IgG por mililitro (U/mL), usando como referencia sueros estándares de anticuerpos IgG contra el polisacárido C. Las muestras con valores de concentración por debajo del límite de detección de los ensayos (367 U/mL) se reportaron como la mitad de este valor.

Procesamiento estadístico: se calcularon la media geométrica (MG) y los intervalos de confianza al 95 % (IC 95 %), después de la transformación logarítmica de los valores de anticuerpos obtenidos en los tiempos estudiados. Se empleó el análisis de varianza para comparar la MG entre los grupos y la prueba exacta de Fisher para evaluar la diferencia entre los porcentajes de seroconversión. Se estimó la seroconversión, definida como el aumento ³ 1:4 de la respuesta inducida por la vacunación con respecto a la basal existente antes de inmunizar; en el caso del EBS se empleó además de este criterio, el análisis de los porcentajes de muestras con títulos ³ 1:8 en cada tiempo analizado.¹⁶ En las pruebas de estimación y de hipótesis usadas se consideró un error de primer tipo $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Los resultados de la actividad bactericida en el suero, medida por el EBS, contra la cepa

TABLA 1. Actividad bactericida en suero y concentración de anticuerpos contra *N. meningitidis* ATCC C11, en adolescentes vacunados con VA-MENGOC-BC® 12 años antes. Ciego de Ávila, 2000

Ensayo	No.	MG	IC	³ NC	%
EBS	178	3	2-3	44	25
ELISA	183	826	704-971	143	78

MG: media geométrica, IC = intervalo de confianza 95 %.

Fuente: Base de datos DACTA.

homóloga de *N. meningitidis* ATCC C11 y la concentración de anticuerpos, medidos por ELISA, frente al PSC C se muestran en la tabla 1. Después de 12 años de la inmunización con VA-MENGOC-BC®, 25 % de los adolescentes presentó títulos bactericidas = 1:8 frente a esta cepa y 78 % mostró una concentración de anticuerpos detectables contra el PSC C.

En la tabla 2 se muestran los porcentajes de seroconversión obtenidos, mediante EBS y ELISA, frente a la cepa de *N. meningitidis* ATCC C11. Los resultados del EBS se reflejan, tanto por el criterio empleado habitualmente (aumento en 4 títulos del T_n con respecto al T_0), como por el criterio actual (% de títulos bactericidas ³ 1:8 de los sueros en cada tiempo analizado).

Por EBS, según el primer criterio, posterior a la primera dosis el porcentaje de seroconversión fue 49 y posterior a la segunda 47. Según el criterio actual, los porcentajes de seroconversión resultaron 21 en el T_0 , 59 en el T_1 y 55 en el T_2 . En los resultados de las muestras procesadas mediante ELISA, después de la primera y segunda dosis, se observa que la seroconversión se comportó de manera similar, 82 %. Por ambos criterios y métodos, no existieron diferencias significativas entre los porcentajes de seroconversión obtenidos después de las 2 dosis ($p > 0,05$); esto demuestra que la aplicación de una sola dosis de refuerzo de VA-MENGOC-BC® después de 12 años, indujo una respuesta inmune importante en este grupo de edad. Se pone en evidencia una respuesta anamnésica.

En la tabla 3 se refleja la MG y los IC 95 % de la actividad bactericida sérica frente a la cepa de *N. meningitidis* ATCC C11 y de la concentración de anticuerpos contra el PSC C. Por ambos métodos no existieron diferencias

TABLA 2. Seroconversión frente a *N. meningitidis* ATCC C11 inducida por 2 dosis de VA-MENGOC-BC® en adolescentes. Ciego de Ávila, 2000

Ensayo	No.	Criterio anterior				Criterio actual					
		T_1/T_0 ³ 4		T_2/T_0 ³ 4		T_0 ³ NC		T_1 ³ NC		T_2 ³ NC	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
EBS	111	58*	49	55*	47	23	21	66*	59	61*	55
ELISA	114	93*	82	93*	82						

NC: nivel de corte, T_1/T_0 : incremento en 4 o más del título en el T_1 con respecto a T_0 , T_2/T_0 : incremento en 4 o más del título en el T_2 con respecto a T_0

* $p > 0,05$.

Fuente: Base de datos DACTA.

significativas ($p > 0,05$) entre los valores T_1 y T_2 . Sin embargo, hubo diferencias significativas entre estos 2 tiempos con respecto al T_0 ($p < 0,05$), resultante de la inmunización con VA-MENGOC-BC®.

TABLA 3. Medias geométricas e intervalos de confianza de la actividad bactericida contra la cepa C y del ELISA contra el PSC C, inducida por 2 dosis de VA-MENGOC-BC® en adolescentes. Ciego de Ávila, 2000

Tiempo	ATCC C11			PSC C		
	No.	MG	IC	No.	MG	IC
T_0	111	2	2 - 3	114	786	637 - 971
T_1	111	28	16 - 48	114	9126	7336 - 11353
T_2	111	23	13 - 39	114	8552	6872 - 10642

MG: media geométrica, IC: intervalo de confianza 95 % para EBS.

Fuente: Base de datos DACTA.

DISCUSIÓN

El hecho de encontrar, 12 años después de la vacunación, un número considerable de adolescentes con actividad bactericida en el suero y una concentración de anticuerpos aceptables contra la cepa de *N. meningitidis* serogrupo C, pudiera atribuirse a que VA-MENGOC-BC® es capaz de inducir una respuesta inmune de larga duración. Sin descartar que esta inmunidad puede reforzarse por la exposición a bacterias con poca o ninguna relación taxonómica con el meningococo, pero que poseen epítopes semejantes e inducen anticuerpos con reactividad cruzada frente a este microorganismo.¹⁷ Muchas bacterias entéricas parecen tener reactividad cruzada con los serogrupos A y C, tanto para los antígenos capsulares como para los no capsulares.¹⁸

Delgado y otros¹⁹ llevaron a cabo una investigación en niños de 2 a 6 años de edad en Andalucía, con el objetivo de medir la respuesta inmune inducida por la vacuna antimeningocócica de PSC AC y compararla con la inmunidad natural presente en niños no vacunados. Al mes y a los 2 meses posteriores a la vacunación, la proporción de títulos bactericidas 3 1:8 fue significativamente superior en los vacunados (65,5 y 73,9 %) con respecto al grupo control (2,2 y 12 %). A los 6, 7, 12 y 13 meses no se observaron diferencias entre ambos grupos. Los autores concluyeron que, la actividad bactericida adquirida por la aplicación de esa vacuna declinó rápidamente en este grupo de edad.

Algunos autores expresan que, la administración de varias dosis de vacunas antimeningocócicas constituidas por antígenos polisacáridicos, en niños pequeños, provoca una hiporrespuesta.^{8,9}

MacDonald y otros⁹ realizaron un estudio controlado, aleatorio, con el objetivo de evaluar la inducción de memoria inmunológica en niños de 15 a 23 meses de edad. Un grupo recibió 2 dosis (intervalo de 2 meses entre ambas) de una vacuna antimeningocócica C conjugada (*Chiron Corp*, Emeryville, California) y al otro grupo le administraron 2 dosis (intervalo de 2 meses entre ambas) de una vacuna cuativalente antimeningocócica de polisacáridos. Transcurrido 1 año se le aplicó una dosis de la segunda vacuna a todos los niños de ambos grupos. En los que habían recibido la vacuna conjugada se puso en evidencia una respuesta considerable de anticuerpos (IgG) frente al polisacárido C, después de aplicada esta última dosis. Sin embargo, en los que recibieron las 3 dosis de la vacuna cuativalente los resultados mostraron una hiporrespuesta.

Los mismos autores realizaron una extensión del estudio, donde incluyeron a los niños que habían recibido las 3 dosis de la vacuna cuativalente antimeningocócica. Incluyeron, además, el grupo al que le habían aplicado 2 dosis de una vacuna anti-hepatitis B y transcurrido 1 año se le había administrado una dosis de la vacuna cuativalente antimeningocócica. Todos los niños recibieron una dosis de la vacuna antimeningocócica C conjugada. Se tomaron muestras de suero antes y 1 mes después de la inmunización. La vacuna conjugada indujo títulos de anticuerpos bactericidas 3 1:8 en la mayoría de los niños en ambos grupos. Sin embargo, a los 50 meses de edad, aún se evidenció una hiporrespuesta frente al polisacárido C en los niños donde se había encontrado hiporrespuesta a los 34 meses. El mecanismo molecular de este comportamiento es aún desconocido.²⁰

Sin embargo, los resultados de esta investigación demostraron que, tanto por EBS como por ELISA, la reinmunización con 2 dosis de VA-MENGOC-BC®, 12 años después de aplicado el primer esquema de vacunación, no indujo hiporrespuesta frente a la cepa de *N. meningitidis* ATCC C11 y al PSC C en el grupo de adolescentes estudiado. Debe tenerse en cuenta que, aunque el

PSC en esta vacuna no está conjugado covalentemente a una proteína portadora, su interacción con las vesículas de membrana externa pudiera explicar este comportamiento.

SUMMARY

The antibodies' response induced by the VA-MENGOC-BC® Cuban antimeningococcal vaccine against the ATCC C11 strain was studied by Bactericidal Serum Trial and ELISA among 184 adolescents from a polytechnic, in Ciego de Ávila, that had been immunized in mass campaigns 12 years before. Blood samples were taken before administering the first dose (T_0), 4 weeks later (T_1), and 4 weeks after the second dose (T_2). 12 years after vaccination, 25 % of the adolescents presented bactericidal titers $\geq 1:8$ against the evaluated strain. 78 % showed a concentration of antibodies over the limit of detection against the meningococcus C capsular polysaccharide. The percentages of seroconversion after the first dose were 59 by Bactericidal Serum Trial and 82 by ELISA. There were no significant differences ($p > 0.05$) between the results obtained after the first and second dose by both trials. The reimmunization with 2 doses of the vaccine did not cause hyporesponsiveness against the ATCC C11 strain in this age group.

Subject headings: IMMUNOLOGIC TESTS; MENINGITIS; MENINGOCOCCAL; NEISSERIA MENINGITIDIS/ isolation&purification; ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY; IMMUNOLOGIC MEMORY; VACCINES/ immunology.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Solberg CO. Infecciones meningocócicas. En: Fauci AS, Braunwal E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martín JB, Kasper DL *et al* (eds). Harrison. Principios de Medicina Interna. 14ª ed. vol. 1. McGraw-Hill-Interamericana 1998.p.1040-5.
- Havens PL, Garland JS, Brook MM, Dewitz BA, Stremski ES, Troshynski TJ. Trends in mortality in children hospitalized with meningococcal infections, 1957 to 1987. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8:8-11.
- Schwartz B, Moore PS, Broome CV. Global epidemiology of meningococcal disease. *Clin Microbiol Rev* 1989;2(Suppl.):118-24.
- Frasch CE. Meningococcal vaccines: past, present and future. In: Cartwright K, ed. *Meningococcal disease*. Chinchester, Jhn Wiley & Sons; 1995.p.245-83.
- Griffiss JM. Mechanisms of Host Immunity. In: Cartwright K, ed. *Meningococcal disease*. Chinchester, John Wiley & Sons Ltd; 1995.
- Goldschneider I, Gotschlich EC, Artenstein MS. Human immunity to the meningococcus I. The role of humoral antibodies. *J Exp Med* 1969;129(6):1307-26.
- Holst J, Feiring B, Fuglesang JE, Hoiby EA, Nokleby H, Aaberge IS. Serum bactericidal activity correlates with the vaccine efficacy of outer membrane vesicle against *Neisseria meningitidis* serogroup B disease. *Vaccine* 2003;21:734-7.
- Leach A, Twumasi PA, Kumah S. Induction of immunologic memory in Gambian children by vaccination in infancy with group A plus group C meningococcal polysaccharide protein conjugate vaccine. *J Infect Dis* 1997;175:200-4.
- MacDonald NE, Halperin SA, Law BJ, Forrest B, Danzig LE, Granoff DM. Induction of immunologic memory by conjugated vs plain meningococcal C polysaccharide vaccine in toddlers a randomized controlled trial. *JAMA* 1998;280:1685-9.
- Regueira M, Palmeiro S, Gutiérrez M, Malberty A, Sotolongo PF, García AM. Estudio de cepas de *N. meningitidis* circulantes en Argentina 1991-1993 y ensayos de sueros de vacunados con la vacuna antimeningocócica de origen cubano contra cepas de los diferentes serotipos y subtipos causantes de la enfermedad. *Rev Hosp Niños Buenos Aires* 1994;36(158/159):249-54.
- Echeverry ML, Malberty JA, Galeano ML, Sotolongo PF, Galguera MA, Montoya BC. Respuesta inmune humoral al polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo C en un ensayo de vacunación antimeningocócica BC en Antioquia, Colombia. *Bol Ofic Sanit Panam* 1995;118(4):295-301.
- Fernández JA, Malberty JA, Sotolongo PF, Bacallao GJ, Camaraza MA, Nerey OM *et al*. Cinética de la respuesta de anticuerpos bactericidas y de la IgG específica en individuos vacunados con VA-MENGOC-BC®. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1997;13(1): 38-45.
- Sotolongo F. *Neisseria meningitidis*: aspectos teórico-prácticos sobre el diagnóstico, clasificación y valoración de la respuesta inmune. La Habana: Ediciones Finlay, Instituto Finlay; 1995. Serie monográfica.
- Maslanka SE, Gheesling LL, Libutti DE, Donaldson KB, Haraek HS, Dykes JK. Standarization and a multilaboratory comparison of *Neisseria meningitidis* serogroup A and C serum bactericidal assays. The multilaboratory Study Group. *Clin Diag Lab Immunol* 1997;4:156-67.
- Nerey M, Ochoa R, Martínez JC, Licea T, Ferriol X, García AM *et al*. ELISA para la cuantificación de IgG humana antipolisacárido C de *N. meningitidis* Biotecnología Habana'97. *Av Biotecnol Mod* 1997 Dic 1-6;4:C30.
- Gray SJ, Carr AD, Rigde AG, Makenna J, Kaczmarek EB, Clarke SC *et al*. En: Caugant D, Wedege E (eds). Phenotypic characterization of *Neisseria meningitidis* isolates collected from UK 15-18 years old at the time of introduction of serogroup C polysaccharide conjugate vaccine and one year post vaccine. *Proceeding of the 13th International Pathogenic Neisseria Conference*; 2002. September 1-6; Oslo: Division of Infectious Disease Control; 2002:346.
- Kasper DL, Winkelhake JL, Zollinger WD, Brandt BL, Artenstein MS. Immunochemical similarity between polysaccharide antigens of *Escherichia coli* 07:K1(L): NM and group B *Neisseria meningitidis*. *J Immunol* 1973;110:262-8.
- Robbins JB, Schneerson R, Liu TY, Schiffer MS, Schiffman G, Myerowitz RL. Cross-reacting bacterial antigens and immunity to disease caused by encapsulated bacteria. In: E. Neter and F. Milgram (eds), *The immune system and infectious diseases*. S. Karger, Basel. 1974. p.141-218.
- Delgado E, Berrón S, García J, González J, Martínez F. Actividad bactericida frente a *Neisseria meningitidis* C en población vacunada y no vacunada en Andalucía. *Rev Esp Salud Públ* 1998;72(5):407-10.
- MacDonald NE, Halperin SA, Law BJ, Danzig LI, Granoff DM. Can meningococcal C conjugate vaccine overcome immune hyporesponsiveness induced by previous administration of multiple doses of plain polysaccharide vaccine?. *JAMA* 2000;283:1826-7.

Recibido: 3 de julio de 2003. Aprobado: 3 de noviembre de 2003.

Dra. María A. Camaraza. Instituto Finlay. Avenida 27 No. 19805, La Lisa. AP 16017, CP 11600, Ciudad de La Habana, Cuba. Fax: (53-7) 208 6075; Teléfono: (53-7) 202 0986; Correo electrónico: camaraza@finlay.edu.cu

Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana

Álvaro González de Aledo^a / Luis Viloria^b

^aEspecialista en Pediatría y en Medicina Preventiva y Salud Pública. Jefe de Sección de Promoción y Educación para la Salud.

^bEspecialista en Medicina Preventiva y Salud Pública. Sección de Vigilancia Epidemiológica.

Correspondencia: A. González de Aledo Linos. Valdeñoja, 46, 7.º I. 39012 Santander (Cantabria). España.

Correo electrónico: gonzalezdealedo_a@gobcantabria.es

Recibido: 27 de marzo de 2003.

Aceptado: 20 de septiembre de 2003.

(Meningococcus B serosubtypes causing invasive disease in Cantabria [Spain] and agreement with the Cuban vaccine strain)

Resumen

Objetivo: Conocer los serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y el porcentaje de concordancia con la cepa de la vacuna cubana VA-Mengoc-BC.

Métodos: Revisión retrospectiva de todos los casos de enfermedad invasiva por meningococo B declarados a través del sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) entre el 1 de enero de 1998 y el 28 de febrero de 2003, los aislamientos bacteriológicos del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y la serosubtipificación hecha en el laboratorio de referencia de Majadahonda.

Resultados: De los 117 casos declarados, se identificó el serosubtipo de 79 (67,5%). La coincidencia con la cepa vacunal cubana fue del 67, el 71 y el 76% en los grupos de edad de 0 a 19 años, 18 meses a 19 años, y de 4 a 19 años, respectivamente. Incluyendo las cepas con protección cruzada, estos porcentajes se elevan al 83, el 83 y el 84%, respectivamente, en los mismos grupos de edad.

Conclusiones: El porcentaje de coincidencia con la cepa vacunal cubana y con las cepas heterólogas con protección cruzada es alto, por lo que esta vacuna podría ser de utilidad para la situación epidemiológica de Cantabria.

Palabras clave: Vacunas meningocócicas. Infecciones meningocócicas.

Summary

Objective: To determine the serosubtypes of meningococcus B causing invasive disease in Cantabria and the percentage of agreement with the Cuban vaccine strain, VA-MENGOC-BC.

Methods: We performed a retrospective review of all cases of invasive disease due to meningococcus B declared through the Diseases of Mandatory Reporting System between 1st January 1998 and 28th February 2003. The bacteriological isolates of the «Marqués de Valdecilla» University Hospital, and the serosubtyping performed in the Majadahonda reference laboratory (Madrid, Spain) were also analyzed.

Results: Of the 117 declared cases, serosubtype was identified in 79 (67.5%). The agreement with the Cuban vaccine strain was 67%, 71% and 76% in the age groups of newborn to 19 years, 18 months to 19 years, and 4 to 19 years, respectively. When strains with cross-protection were included, these percentages increased to 83%, 83% and 84%, respectively, in the same age groups.

Conclusions: The percentage of agreement between the Cuban vaccine strain and heterologous strains with cross-protection was high. Therefore, this vaccine could be useful in Cantabria.

Key words: Meningococcal vaccines. Meningococcal infections.

Introducción

En Cantabria, la campaña de vacunación contra el meningococo C con vacuna polisacárida se llevó a cabo en febrero de 1997, realizándose 3 semanas después de superarse la tasa primaria de ataque de 10/100.000 en el grupo de riesgo, y consiguiendo vacunar al 93,45% de la población diana en las primeras 2 semanas y al 98,75% en

las siguientes. Posteriormente, se mantuvo la vacunación de los lactantes de 18 meses hasta abril de 1999, y en octubre de 2000 se procedió a la revacunación con vacuna conjugada de los menores de 6 años y a su introducción en el calendario vacunal, con coberturas superiores al 97%. Tras estas campañas, se produjo la práctica eliminación de la enfermedad por meningococo C y su sustitución por el serogrupo B, que es el que actualmente está produ-

González de Aledo Á, et al. Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana

ciendo más morbilidad en nuestra comunidad. Dado que se comercializa en otros países una vacuna contra el meningococo B de origen cubano, efectiva contra la cepa homóloga, pero cuya eficacia contra cepas heterólogas (distintas de la vacunal) se discute, nos propusimos conocer los serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria, para valorar la posible utilidad de la citada vacuna en nuestra situación epidemiológica.

Métodos

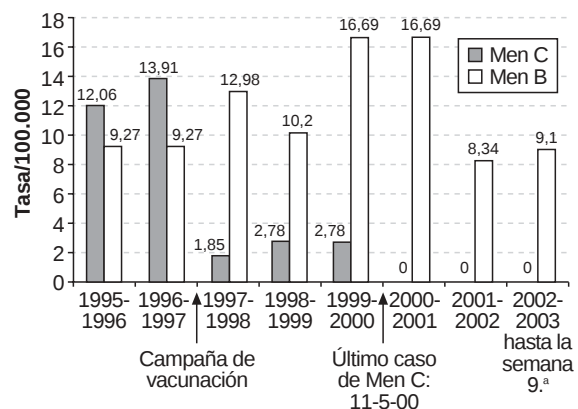
Se ha realizado una revisión de los aislamientos bacteriológicos de todos los casos de enfermedad invasiva por meningococo B declarados en Cantabria entre el 1 de enero de 1998 y el 28 de febrero de 2003, mediante los registros de las enfermedades de declaración obligatoria de la Dirección General de Salud Pública y Consumo, y cruzando estos datos con los aislamientos del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Posteriormente, se han cotejado con la serosubtipificación de las cepas de meningococo B realizada en el laboratorio de referencia del Centro Nacional de Majadahonda, del Instituto de Salud Carlos III.

Se ha considerado cepa homóloga a la B:4:P1.15, que es la incluida en la vacuna cubana, y cepas con protección cruzada a las B:NT:P1.15, B:NT:P1.14, y B:15:P1.15, que son las que, entre las aisladas en Cantabria y según la bibliografía, en los ensayos de bactericidas son lisadas por anticuerpos bactericidas presentes en el suero de vacunados con la vacuna cubana¹⁻³. Las otras cepas, cuya protección cruzada no se ha documentado, no se consideraron cubiertas por la vacuna, aunque esta ausencia de datos no significa que la protección no pueda existir.

Finalmente, se ha calculado el porcentaje de cepas homólogas y cepas con protección cruzada que se han aislado en los casos de enfermedad invasiva en Cantabria, estratificados en 4 grupos de edad: de 0 a 19 años (todo el grupo de riesgo), de 18 meses a 19 años (el grupo de riesgo definido en 1997 para la vacuna polisacárida en función de la ausencia de protección en los menores de 18 meses), de 4 a 19 años (grupo en que el efecto protector de la vacuna cubana es máximo) y, finalmente, en el conjunto de la población.

En la figura 1 se muestran las tasas de incidencia por 100.000 habitantes de 18 meses a 19 años (grupo de riesgo) para ilustrar la evolución de los serogrupos B y C y la influencia de la campaña de vacunación.

Figura 1. Incidencia de serogrupos B y C en el grupo de 18 meses a 19 años de edad.



Resultados

En el período de estudio se han declarado en Cantabria 117 casos de enfermedad invasiva por serogrupo B en todas las edades. De ellos, se ha conseguido la serotipificación de 79 (67,5%). De estos 79 serotipificados, 39 (49,3%) tenían entre 4 y 19 años. Los resultados de estos 79 aislamientos están detallados en la tabla 1. Cabe resaltar que 53 (el 67,08%) correspondieron al serosubtipo B:4:P1.15, es decir, son homólogos a la cepa cubana.

Por edades, los resultados están expuestos en la

Tabla 1. Serosubtipos identificados

Serosubtipo	Casos, n (%)
B:4:P1.15 (cepa cubana)	53 (67,08)
B:NT:P1.15	5 (6,3)
B:NT:P1.14	4 (5,0)
B:NT:P1.16	2 (2,5)
B:2a:P1.5 (cepa recombinante)	2 (2,5)
B:2a:P5	2 (2,5)
B:1:P1.6	1 (1,2)
B:4:P1.14	1 (1,2)
B:NT:P1.7,16	1 (1,2)
B:14:NST	1 (1,2)
B:NT:P1.2,5	1 (1,2)
B:NT:P1.4	1 (1,2)
B:NT:P1.9	1 (1,2)
B:15:P1.15	1 (1,2)
B:4:P1.2,5	1 (1,2)
B:1:P1.14	1 (1,2)
B:1:P1.9	1 (1,2)
Total	79 (100)

González de Aledo Á, et al. Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana

Tabla 2. Cobertura de la vacuna cubana B+C sobre serosubtipos causantes de enfermedad invasiva en Cantabria

Serosubtipos	0-19 años	18 meses-19 años	4 a 19 años	Total población
Cepa cubana	44/65 (67,69%)	35/49 (71,42%)	30/39 (76,92%)	53/79 (67,08%)
Cepas con protección cruzada*	54/65 (83,07%)	41/49 (83,67%)	33/39 (84,61%)	63/79 (79,74%)

*Cepas que en los ensayos de bactericidas son lisadas por anticuerpos bactericidas presentes en el suero de vacunados con la vacuna cubana.

tabla 2, donde se observa que la coincidencia con la cepa homóloga de la vacuna cubana es del 67, el 71 y el 76% en los grupos de edad de 0 a 19 años, 18 meses a 19 años y 4 a 19 años, respectivamente, porcentajes que, si se incluyen las cepas con protección cruzada, se elevan al 83, el 83 y el 84%, respectivamente, en los mismos grupos de edad.

De los 3 casos letales de los que se dispone del serosubtipo, 2 corresponden a la cepa cubana y uno a la B:2a:P1.5 o cepa recombinante.

Discusión

Tras las distintas campañas contra el meningococo C desarrolladas en Cantabria, se consiguió la eliminación de esta infección en nuestra comunidad, habiéndose declarado el último caso en mayo de 2000. Paralelamente, hemos constatado un incremento en la incidencia del serogrupo B, que alcanzó un pico en las temporadas 1999-2001, y llegó en el grupo de riesgo a una tasa de 16,69/100.000, superior a la que existía por el serogrupo C antes de la campaña de vacunación de 1997 (fig. 1). Además, la letalidad del serogrupo B ha aumentado desde el 0% en 1997-1998, al 4% en 1999-2001, y al 14-15% en 2002-2003. A ello puede haber contribuido la difusión por la cornisa cantábrica (País Vasco y Cantabria), a partir de otoño de 2001, de una nueva cepa, la B:2a:P1.5, procedente del *switching* o recombinación capsular entre cepas del serogrupo B y el C, que terminan expresándose como serogrupo B. Una vez que aparece esta cepa recombinante, si previamente ha existido una fuerte presión (p. ej., mediante vacunación) contra un serogrupo, la cepa recombinante encuentra condiciones favorables para su propagación, al ser capaz de eludir la respuesta inmunitaria inducida por la vacuna contra el otro serogrupo. La facilidad de diseminación y la ausencia de respuesta inmunitaria favorecen su incidencia y letalidad.

A principios de los ochenta, Cuba padeció una epidemia de meningitis B que alcanzó su pico en 1984, con una incidencia de 14/100.000³. Esta epidemia siguió a una campaña de vacunación altamente eficaz contra el meningococo C, realizada en 1979 con la vacuna polisacárida A+C, situación muy parecida a la de Cantabria^{4,5}. La epidemia de meningitis B fue causada

por un serosubtipo predominante, contra el que se desarrolló una vacuna con tecnología propia en el Instituto Finlay, de La Habana, que consiguió acabar con la epidemia y disminuir la letalidad mediante una campaña amplia de vacunación (dirigida al grupo diana de 3 meses a 24 años) y, posteriormente, mediante la inclusión de la vacuna en su calendario^{5,6}. Esta vacuna cubana (VA-Mengoc-BC) se ha comercializado posteriormente en más de 20 países desde 1987. Consta de proteínas de la membrana externa del meningococo B (cepa cubana Cu385/83, correspondiente al serosubtipo B:4:P1.15, con 50 µg por dosis) y del polisacárido del meningococo C (50 µg por dosis)⁴. Si esta asociación fuera suficientemente efectiva en Cantabria, disminuiría la incidencia del serogrupo B y serviría como segunda dosis inmunizante contra el serogrupo C (no como dosis *booster* en sentido estricto, pues las vacunas polisacáridas no generan memoria inmunológica), lo que garantizaría otros 5 años de protección (10 años para los más optimistas) del grupo de riesgo, esta vez contra los 2 serogrupos.

De la vacuna cubana se ha usado más de 40 millones de dosis en Cuba, Ucrania, Mongolia, Argentina, Brasil, Colombia, Paraguay, Uruguay y otros países con epidemias de meningococo B, en los que ha resultado efectiva para su control, y en Cuba forma parte del calendario vacunal a los 3 y 5 meses desde 1991⁵⁻⁷. Respecto a su efectividad clínica, aunque es moderada en los menores de 4 años (28-47%), en las edades mayores es buena (el 74% en los mayores de 4 años, el 83-94% en los de 10-14 años)^{4,7-13}. En Cuba y Brasil, la efectividad vacunal en menores de 6 años es del 92 y el 75%, respectivamente^{4,6}. Además, en las zonas donde la vacunación se ha realizado en forma de campaña masiva y rápida, la efectividad clínica ha sido aún mayor: el 99% en La Habana, el 99,8% en Ciego de Ávila o el 98% en Holguín (porcentajes referidos a niños de 3 meses a 5 años), aunque algunos autores ponen en duda estas cifras^{4,14}. La duración de la protección se estima al menos en 5 años. La vacuna disminuye la tasa de portadores y produce respuesta anamnésica si se revacuna con una tercera dosis unos meses o años después^{6,15}.

Se ha argumentado que esta efectividad clínica no sería reproducible en países donde el serosubtipo de meningococo B circulante fuera distinto del vacunal. No obstante, algunos ensayos realizados en modelos ani-

González de Aledo Á, et al. Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana

males y estudios de anticuerpos bactericidas con sueros de pacientes vacunados demostraron que su protección es de amplio espectro contra otros serosubtipos del serogrupo B (al menos los circulantes en Sudamérica), y no sólo contra la cepa vacunal u homóloga^{1,2,4,9,16}. Estos resultados se han cuestionado posteriormente, en estudios de anticuerpos bactericidas desarrollados en el contexto de una epidemia en Chile por una cepa distinta de la vacunal¹⁷. No obstante, se ha comprobado y se admite universalmente que la tasa de anticuerpos bactericidas contra el meningococo no se correlaciona con la protección clínica, y que esta falta de correlación es aún mayor para el serogrupo B que para el C, debido a su escasa inmunogenicidad y a que los anticuerpos pueden dirigirse contra antígenos subcapsulares, que no se miden con la técnica serológica utilizada^{3,15}. Esta ausencia de correlación también se comprobó en Cantabria en el estudio de anticuerpos bactericidas desarrollado tras la campaña de vacunación contra el serogrupo C de 1997, con diferencias de hasta un 93% entre la eficacia clínica y la «protección serológica» en las edades menores¹⁸. Además, otros anticuerpos no bactericidas pueden ser protectores a través de mecanismos diferentes¹⁵. Así pues, el mejor parámetro de protección es la efectividad clínica de la vacuna, y a ésta se refieren los porcentajes de protección comprobados para la vacuna cubana y citados en el párrafo anterior.

En 1998 se publicó el primer estudio con la vacuna cubana en población europea (Islandia) auspiciado por la OMS en jóvenes de 15-20 años, en el que se indicó de nuevo la escasa correlación entre los anticuerpos bactericidas y la protección clínica. Como ejemplo, la vacuna cubana, que era considerada más efectiva clínicamente, inducía menos tasa de seroconversión que la vacuna noruega alternativa, producida por el National Institute of Public Health, de Oslo. También se observó que la aplicación de una tercera dosis de la vacuna cubana incrementaba la protección cruzada contra cepas no vacunales (heterólogas)¹⁵.

Como resumen de todos los trabajos citados, puede concluirse lo siguiente: la vacuna es inmunógena con 2 dosis contra cepas homólogas desde los primeros meses; es inmunógena contra cepas heterólogas, incluso desde los 2 años con una tercera dosis; es clínicamente efectiva contra cepas homólogas desde los 3 meses, y es clínicamente efectiva contra cepas heterólogas desde los 4 años. La efectividad clínica es mayor cuando se usa en forma de campaña masiva, tal vez por sumarse la inmunidad de grupo a la protección individual.

En este contexto, hay que señalar que en 1999 el laboratorio GSK adquirió los derechos de la patente de

la vacuna cubana para su comercialización en Europa y que está desarrollando estudios clínicos en colaboración con el fabricante de la vacuna (el Instituto Finlay, de La Habana) para valorar la efectividad de la vacuna cubana, ligeramente modificada, en España y en Inglaterra. En España está en marcha un ensayo de fase II en adolescentes para evaluar su inmunogenicidad, seguridad y pauta de dosificación, y tal vez cuando estos resultados estén disponibles se decida su autorización, lo que facilitaría su uso. Pero, mientras tanto, es posible que estos estudios retrasen, en cierto modo, su eventual utilización hasta que se disponga de los resultados definitivos en varios grupos de edad, lo que puede llevar varios años. Las otras vacunas contra el meningococo B fabricadas por otros laboratorios, que se están probando en varios países (de momento con menor eficacia que la vacuna cubana), no están comercializadas, por lo que su utilización actual no se plantea^{15,19}.

A la vista de nuestros resultados, consideramos que la vacuna cubana sería efectiva en la situación epidemiológica de Cantabria, quizá con una efectividad algo menor que la de otras vacunas pediátricas a las que estamos acostumbrados, pero aun así se justifica su uso ante la carencia de alternativas más eficaces. En el escenario menos favorable a la vacuna —limitando la campaña al grupo de 4-19 años, que representa el 49,3% de los casos—, se evitaría el 56% de las enfermedades invasivas en este grupo de edad (el 76,92% de coincidencia con la cepa homóloga con el 74% de efectividad vacunal en este grupo de edad). En el más favorable —vacunando a la población desde lactantes hasta los 19 años en forma de campaña masiva, como la de 1997—, se evitaría el 82% de los casos de todo el grupo de riesgo (el 83,07% de coincidencia con las cepas homólogas y heterólogas cubiertas por la vacuna con el 99% de efectividad vacunal, descrita en algunas campañas en Cuba). A lo anterior habría que añadir el beneficio de inmunizar simultáneamente contra el serogrupo C y, lo que es más importante, evitar algunos fallecimientos. En un reciente trabajo publicado sobre la vacuna cubana, en colaboración entre el Imperial College School of Medicine, de Londres, y el Instituto Finlay, se concluye: «La vacuna tiene un excelente perfil de seguridad y puede ser un complemento útil a la profilaxis antibiótica en el manejo de las epidemias de serogrupo B homólogas»³. La pregunta es si se puede considerar que éste sea el caso de Cantabria, que ha alcanzado una incidencia de casi 17/100.000 en el grupo de riesgo que corresponde a una incidencia de 12/100.000 de la cepa homóloga. Con incidencias muy inferiores se vacunó en algunas comunidades autónomas en 1997 y 1998 contra el sero-

González de Aledo Á, et al. Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana

Bibliografía

1. Regueira M, Palmerio S, Gutiérrez MM, Malberty A, Sotolongo F y García AM. Estudio de cepas de *Neisseria meningitidis* circulantes en la Argentina 1991-1993 y ensayo de sueros de vacunados con una vacuna antimeningocócica de origen cubano contra cepas de los diferentes tipos y subtipos causantes de enfermedad. *Rev Hosp Niños B Aires* 1994;36:242-6.
2. Sotolongo F, Martínez OM, Camaraza MA, Gutiérrez M, Galguera MA, Izquierdo L, et al. Bactericidal activity in sera from recipients vaccinated with VA-Mengoc-BC against strains of different serotypes and subtypes. En: *Pathobiology and immunobiology of Neisseriaceae. Proceedings of the VIII International Pathogenic Neisseria Conference*. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1994.
3. Morley SL, Cole MJ, Ison CA, 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.
4. Almeyda L, Rico O. Información general sobre la enfermedad meningocócica en Cuba. Vacuna para su prevención y alcance. *Rev Hosp Niños B Aires* 1994;36:234-41.
5. Galguera MA, Gutiérrez M, Caro E, Rodríguez L, Sotolongo F, Sierra VG, et al. Studies of serogroup B strains of *Neisseria meningitidis*: main causal agent of the meningococcal disease in Cuba after 1980. En: *Pathobiology and immunobiology of Neisseriaceae. Proceedings of the VIII International Pathogenic Neisseria Conference*. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1994; p. 222-8.
6. Sierra VG, Campa C, Terry H, Echeverry ML. Epidemiologic & laboratory evaluation of the Cuban meningococcal vaccine BC. Three years of follow up. En: *Pathobiology and immunobiology of Neisseriaceae. Proceedings of the VIII International Pathogenic Neisseria Conference*. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 1994; p. 909-15.
7. Pérez A, Dickinson F, Baly A, Martínez R. The epidemiological impact of antimeningococcal B vaccination in Cuba. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:433-40.
8. Maiden MCJ, Spratt BG. Meningococcal conjugate vaccines: new opportunities and new challenges. *Lancet* 1999;354:615-6.
9. Sierra GV, Campa HC, Varcacel NM, García IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF, et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. *NIPH Ann* 1991;14:195-207.
10. Rico O, Jiménez R, Pereira C. Meningococcal disease and VA-Mengoc-BC in minors less than 1 year of age. Cuba 1983 to 1991. *Rev Cubana Med Trop* 1996;48:34-9.
11. Pérez A, Meneses FO. VA-Mengoc-BC vaccine: its impact on meningococcal disease in children 1-4 years old. *Rev Cubana Med Trop* 1999;51:189-93.
12. Rico O, Bravo JR, Díaz M. Effectiveness of VA-Mengoc-BC in children from 0 to 5 years of age in Cuba. First year of observation. *Rev Cubana Med Trop* 1994;46:94-8.
13. Moraes JC, Perkins BA, Camargo MC, Hidalgo NT, Barbosa HA, Sacchi CT, et al. Protective efficacy of a serogroup B meningococcal vaccine in Sao Paulo, Brazil. *Lancet* 1992;340:1074-8.
14. Rico O, Pereira C, Fernández AA. The post-licensing efficacy of VA-Mengoc-BC in children under 6 in Holguín, Cuba. The first year of observation. *Rev Cubana Med Trop* 1995;47:59-64.
15. Perkins BA, Jonsdottir K, Briem H, Griffiths E, Plikaytis BD, Hoiby EA, et al. Immunogenicity of two efficacious outer membrane protein-based serogroup B meningococcal vaccines among young adults in Iceland. *J Infect Dis* 1998;177:683-91.
16. Sifontes S, Infante JF, Pérez P, Caro E, Sierra G, Campa C. The hyperferremic mouse model for the evaluation of the effectiveness of VA-Mengoc-BC against *Neisseria meningitidis* B clinical isolates. *Arch Med Res* 1997;28:41-5.
17. Tappero JW, Lagos R, Ballesteros AM, Plikaytis B, Williams D, Dykes J, et al. Immunogenicity of 2 serogroup B outer-membrane protein meningococcal vaccines: a randomized controlled trial in Chile. *JAMA* 1999;281:1520-7.
18. González de Aledo A, García Merino J. Seroprevalencia de anticuerpos bactericidas frente al meningococo C en Cantabria 10 meses después de la campaña de vacunación. *Rev Esp Salud Pub* 1998;72:365-7.
19. Navarro Alonso JA. Perspectivas de la vacuna frente al meningococo B. *Vacunas* 2000;1:10-3.

Control de un brote epidémico de enfermedad meningocócica por *N. meningitidis* serogrupo B

Dras. María Catalina Pérez, Teresa Picón†, Jeannette Galazka†, Ivonne Rubio‡, Alicia Montano‡, Ana María Ferrari‡*

**Comité de Infectología de la Sociedad Uruguaya de Pediatría.
Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay**

Resumen

Introducción: en Uruguay, en julio del año 2001, algunos eventos alertaron sobre la posibilidad de un cambio en la evolución de la enfermedad invasiva meningocócica (EIM), por *Neisseria meningitidis* serogrupo B y señalaron la posibilidad del pasaje de la forma endémica a la forma epidémica de la enfermedad. El brote epidémico que ocurrió entre mayo y julio de 2001 en la ciudad de Santa Lucía, departamento de Canelones, con una tasa de incidencia de 30 casos/100.000 habitantes motivó una amplia discusión entre las autoridades sanitarias del país que culminó con la vacunación de la población de 4 a 19 años de esta ciudad y sus alrededores y que se extendió luego al resto del país. Se usó la vacuna antimeningocócica B-C desarrollada por el Instituto Finlay de Cuba.

Objetivo: analizar los casos de EIM ocurridos después de la vacunación con vacuna antimeningocócica B-C en los departamentos de Canelones (443.053 habitantes) y de Montevideo (1.344.839 habitantes) en el año de observación posvacunación, abril de 2002 - marzo de 2003 para Canelones, y agosto de 2002 - julio de 2003 para Montevideo.

Material y método: se analizaron los casos de EIM ocurridos en los departamentos de Canelones y de Montevideo y notificados al Área de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública (MSP) después de administrar la vacuna antimeningocócica B-C. Se compararon con los casos ocurridos en los dos años previos. Las variables analizadas fueron: edad, forma clínica, vacunación con vacuna antimeningocócica B-C, evolución clínica, serotipo y subserotipo de *N. meningitidis* serogrupo B.

Resultados: a) Canelones: en el período 1º abril de 2000 - 31 marzo de 2001 la incidencia fue de 1,5 casos/100.000 habitantes, se duplicó en el período 1º abril de 2001 - 31 marzo de 2002 a 3,4/100.000 y en el período posvacunal disminuyó a 1,8/100.000 habitantes. La letalidad fue 27% en el período del brote epidémico y 12,5% en el período posvacunal. En el grupo de 4 a 19 años la incidencia fue de 7,4/100.000 en el período 1º abril de 2001 - 31 marzo de 2002 con tres muertes (todas asociadas a la cepa B: 4,7: P1.19,15); no hubo casos en ese grupo en el período posvacunal.

b) Montevideo: en el período 1º agosto de 2000 - 31 julio de 2001 la incidencia fue de 1,5 casos/100.000 habitantes, aumentando a 2,3/100.000 en el período 1º agosto de 2001 - 31 julio de 2002 y disminuyendo a 1,8/100.000 en el posvacunal. En los dos primeros períodos predominó la cepa B: 4,7: P1.19,15. La letalidad fue de 5% en el período 1º agosto de 2000 - 31 julio de 2001, 10% en el

* Prof. Agregada de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

† Pediatras. Comité Infectología de la Sociedad Uruguaya de Pediatría.

‡ Profesoras de Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

Correspondencia: Dra. María Catalina Pérez

Centro Hospitalario Pereira Rossell Hospital Pediátrico. Br. Artigas 1550, piso 3. CP 11600. Montevideo, Uruguay.

E-mail: mcpirez@yahoo.com

Recibido: 5/9/03.

Reenviado para modificaciones: 29/1/04.

Aceptado: 23/4/04.

período 1º agosto de 2001 - 31 julio de 2002 y 4,5% en el posvacunal. De los 24 casos ocurridos luego de la vacunación, seis se presentaron en pacientes vacunados. En el grupo de 4 a 19 años hubo 15 casos en el período 1º agosto de 2001 - 31 julio de 2002 y 11 después de la vacunación. Discusión: la incidencia de la enfermedad después de la campaña de vacunación se situó en los valores previos al año 2001. No se presentaron casos en el grupo de 4 a 19 años (población objeto de la vacunación) en Canelones. En ese grupo etario en Montevideo no se observaron cambios. Se destaca la disminución de muertes causadas por la cepa vacunal. Conclusión: la vacunación con la vacuna antimeningocócica B-C fue útil para el control del brote epidémico del año 2001. Logró reducir la incidencia y los casos fatales en el grupo vacunado.

Palabras clave: MENINGITIS MENINGOCÓCICA- epidemiología.
MENINGITIS MENINGOCÓCICA – inmunología.
VACUNAS MENINGOCÓCICAS.

Antecedentes

En los últimos años ha ocurrido en Uruguay un cambio en la epidemiología de la enfermedad invasiva meningocócica (EIM), asistiéndose prácticamente a la desaparición de casos correspondientes a *Neisseria meningitidis* serogrupo C, lo que puede atribuirse en parte a las campañas de vacunación de los años 1996 y 1999. Los casos por serogrupo B han ido aumentando siendo actualmente el único serogrupo aislado de casos de EIM en Montevideo y Canelones.

En julio del año 2001 se detectaron algunos eventos que alertaron sobre la posibilidad de un cambio en la evolución de la EIM por *Neisseria meningitidis* serogrupo B: aumento en el número de casos, desplazamiento de las edades de los pacientes afectados hacia la franja de mayores de 5 años, agrupamiento de casos en una pequeña ciudad del departamento de Canelones (Santa Lucía), fallecimiento de pacientes predominantemente mayores de 5 años y predominio de una cepa, la B:4,7:P1.15,19, sobre una mezcla de cepas de *Neisseria meningitidis* serogrupo B. Estos cambios señalaban la posibilidad del pasaje de la forma endémica a la forma epidémica de la enfermedad⁽¹⁻⁶⁾.

El brote epidémico que ocurrió entre los meses de mayo y julio de 2001 en la ciudad de Santa Lucía, de 16.500 habitantes, con una tasa de incidencia de 30 casos/100.000 habitantes, determinó el alerta de la población y motivó una amplia discusión entre las autoridades sanitarias del país que culminó con la vacunación de la población de 4 a 19 años de esta ciudad y sus alrededores en el mes de diciembre, que se extendió luego progresivamente al resto del país⁽⁶⁾.

La campaña de vacunación se realizó con la vacuna antimeningocócica B-C desarrollada por el Instituto Finlay de Cuba (proteínas de membrana externa, cepa B:4:P1,15 polisacárido capsular C)⁽⁷⁾.

La vacunación fue gratuita y no obligatoria y se administró en un régimen de dos dosis (0 y 8 semanas). Se

recomendó vacunar a la población de 4 a 19 años dado que estudios previos demostraron mayor eficacia en este grupo etario⁽⁸⁻¹¹⁾.

La vacunación se realizó entre diciembre de 2001 - marzo de 2002 en Canelones, abril de 2002 - julio de 2002 en Montevideo y junio de 2002 - octubre de 2002 en el resto del país.

Durante la campaña no se llevó registro individual de los niños vacunados, pero según el número de dosis aplicadas se estima que fue vacunada 70% de la población de 4 a 19 años de todo el país (81% en Canelones y 73% en Montevideo). Sin embargo, se supone que el número de niños de esa edad vacunado debe ser mayor, ya que la vacuna está disponible en el país para su adquisición privada desde 1992, habiéndose vendido desde entonces 170.933 dosis.

En la presente comunicación se analizan los casos de EIM por *Neisseria meningitidis* serogrupo B ocurridos un año después de esta vacunación en los departamentos de Canelones (443.053 habitantes) de abril de 2002 a marzo de 2003 y de Montevideo (1.344.839 habitantes) de agosto de 2002 a julio de 2003*.

Objetivo

Analizar los casos de EIM ocurridos en los departamentos de Canelones y Montevideo después de la vacunación con vacuna antimeningocócica B-C.

Material y método

Se analizaron los casos de EIM ocurridos en los departamentos de Canelones y Montevideo y notificados al Área de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública (MSP) un año después de la vacunación. Dado que la vacunación se realizó en forma escalonada, el período de observación es diferente para cada departamento y se

* Instituto Nacional de Estadística. Censo poblacional 1996

denominó como período posvacunal. La observación se inició al menos un mes después de la aplicación de la segunda dosis. El período posvacunal se extendió para el departamento de Canelones desde el 11 abril de 2002 - 31 marzo de 2003 y para Montevideo desde el 1° agosto de 2002 - 31 julio de 2003. Los casos se compararon con los ocurridos en el mismo departamento en los dos años previos. Para Canelones el primer período de observación fue: 1° abril de 2000 - 31 marzo de 2001; el segundo, 1° abril de 2001 - 31 marzo de 2002 (período que comprendió el brote epidémico). Para Montevideo el primer período de observación fue: 1° agosto de 2000 - 31 julio de 2001; el segundo período fue: 1° agosto de 2001 - 31 julio de 2002.

Un caso de enfermedad meningocócica se definió por el aislamiento de *N. meningitidis* serogrupo B en un sitio normalmente estéril, como sangre o líquido cefalorraquídeo.

La seroagrupación y serosubtipificación de *Neisseria meningitidis* se realizó en el Departamento de Laboratorios de Salud Pública; las cepas aisladas en el año 2001 fueron también procesadas en el Laboratorio Adolfo Lutz, en Brasil*.

Las variables que se analizaron fueron: edad (menor de 4 años, 4 a 19 años, 20 años y más); forma clínica (meningitis-meningococcemia); vacunación con vacuna antimeningocócica B-C (dos dosis, una dosis, no vacuna); evolución clínica (alta o fallecimiento); serotipo y subserotipo de *N. meningitidis* serogrupo B.

Resultados

a) Canelones

En el período abril de 2000 - marzo de 2003 se registraron 30 casos de EIM en el departamento de Canelones. La incidencia en el primer período fue de 1,5/100.000 habitantes, se duplicó en el segundo período llegando a 3,4/100.000 habitantes y disminuyó en el período posvacunal a 1,8/100.000 habitantes. Durante el segundo período ocurre el brote en la ciudad de Santa Lucía con cinco afectados en 16.500 habitantes, determinando una incidencia de 30/100.000 habitantes.

La distribución de los casos en los tres períodos según sexo, forma clínica, evolución y estado vacunal se presenta en la tabla 1. En el segundo período hubo un predominio de casos en el sexo femenino. Ninguno de los casos de EIM había recibido la vacuna antimeningocócica BC. La letalidad fue de 27% en el segundo período y 12,5% en el período posvacunal. No se habían registrado muertes en el primer período previo al brote epidémico.

En el grupo etario de 4 a 19 años, al que fue dirigida la vacunación, la incidencia en el primer período fue 1,6/100.000 (dos casos), 7,4/100.000 (nueve casos) en el brote epidémico y no se presentó ningún caso en el período posvacunal (figura 1).

La tabla 2 muestra el serotipo y subserotipo de *N. meningitidis* tipo B, responsable de los casos de EIM y su

Tabla 1 - Características de los casos de EIM por *N.meningitidis* serogrupo B.
Canelones: abril de 2000 - marzo de 2003

		1er. período 1/4/00-31/3/01 N: 7	2 período 1/4/01- 31/3/02 N: 15	Posvacunal 1/4/02-31/3/03 N: 8
Sexo	Masculino	2	3	5
	Femenino	5	12	3
Clínica	Meningitis	5	12	7
	Meningococcemia	2	3	1
Evolución	Alta	7	11	7
	Fallecimiento	0	4	1
	Letalidad	-	27%	12%
Vacuna	Sí	0	0	0
	No	7	12	8
	Se desconoce	0	3	0
EIM: enfermedad invasiva meningocócica				

* Ministerio de Salud Pública. Área de Vigilancia Epidemiológica "Situación de las meningitis supuradas en el Uruguay" 13/1/02.

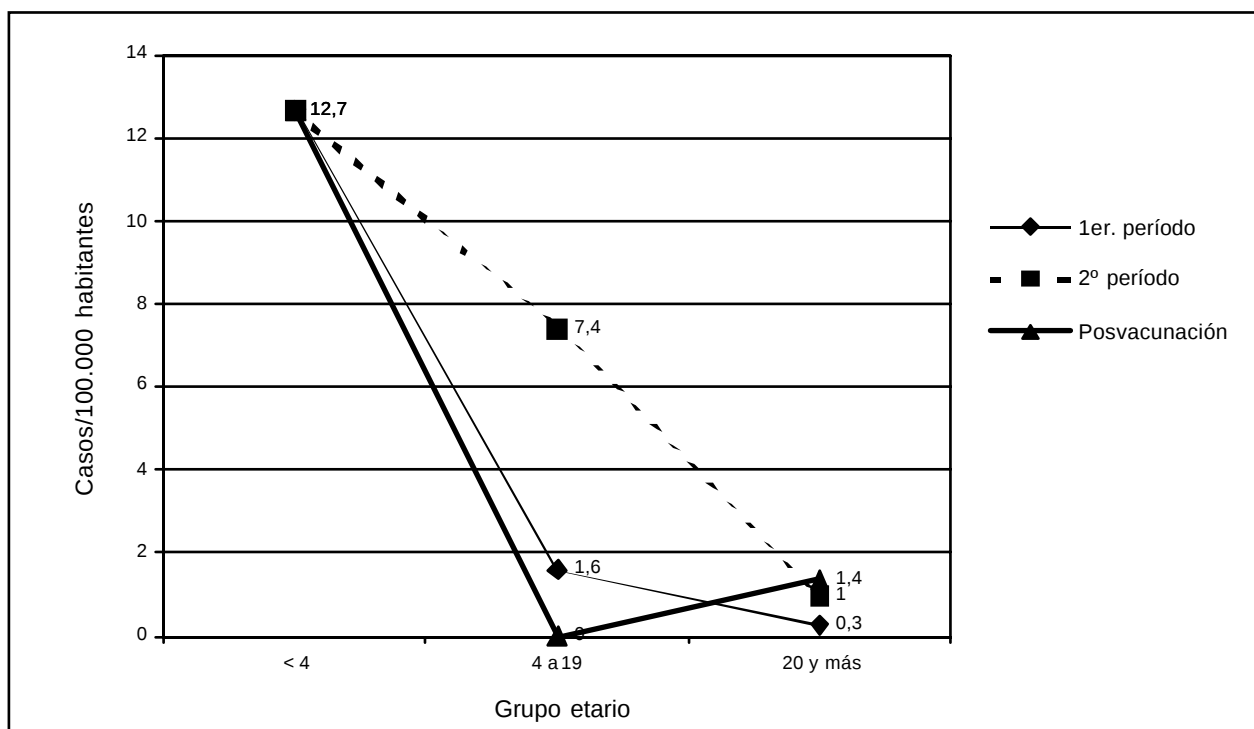


Figura 1. Enfermedad invasiva meningocócica serogrupo B. Canelones: abril de 2000 - marzo de 2003

Tabla 2. Enfermedad invasiva meningocócica por *N.meningitidis* serogrupo B. Serotipo y subserotipo
Canelones: abril de 2000 - marzo de 2003

Serotipo y subserotipo	1er. período 1/4/00-31/3/01		2 período 1/4/01-31/3/02		Posvacunal 1/4/02-31/3/03	
	N° casos	N° muertes	N° casos	N° muertes	N° casos	N° muertes
B:4, 7: P1. 15, 19	3		7	4	3	1
B:4,7: P1.NST*			1			
B:4: P1.14					1	
B:19, P1. NST*			1			
B:19: P1. 14	1					
B:19, 14: P1. 17, 1	1		1			
B:15: P1. 16			2			
B:15: P1. 7, 16					1	
B:2b : P1.10	1					
B: NC: P1. 5.2					1	
B:1:P1. NST*					1	
B:1: P1. 9	1					
No clasificado			3		1	
Total	7	0	15	4	8	1

*NST: no serotificado

Ministerio de Salud Pública. Vigilancia Epidemiológica

relación con la mortalidad. Se observa que en los tres períodos analizados la cepa B:4,7: P1.19,15 es la predominante.

La cepa B:4,7: P1.19,15 se identificó en los cinco casos fatales, cuatro durante el brote epidémico y uno en el período posvacunal. De los cuatro casos fallecidos en el segundo período, tres correspondían al grupo de 4 a 19 años y el restante al de 20 y más años. En el período posvacunal no se observaron muertes en el grupo etario vacunado; el caso fallecido correspondió al grupo de 20 y más años.

La figura 2 muestra la distribución de las cepas vacunales y no vacunales causantes de EIM según el grupo etario en los períodos analizados. En el período posvacunal en el grupo etario de 20 años y más, tres de los cuatro casos observados correspondieron a la cepa vacunal.

b) Montevideo

En el período agosto de 2000 - julio de 2003 se registraron 75 casos de EIM en el departamento de Montevideo. La incidencia en el primer período fue de 1,5/100.000 habitantes, aumentó a 2,3/100.000 en el segundo período y disminuyó en el período posvacunal a 1,8/100.000 habitantes.

La distribución de los casos según sexo, presentación clínica, estado vacunal, y evolución se presenta en la ta-

bla 3. En el primer período hubo un predominio de casos en el sexo femenino que no se repitió en los otros períodos. Se observó un aumento marcado de las meningococemias como forma de presentación clínica en el segundo período, que disminuyó francamente en el posvacunal.

La letalidad fue de 5% en el primer período, 10% en el segundo período y 4% en el posvacunal.

En el período posvacunal ocurrieron seis casos en pacientes vacunados con dos dosis: 1) niña de 6 años en la que la cepa aislada fue clasificada como B:4: P1 no serotipificada; 2) niño de 5 años cuya cepa correspondió a B:4:P1.15; 3) niño de 7 años cuya cepa correspondió a B:4:P1.15; 4) niño de 3 años cuya cepa fue clasificada como B:15: P1. 16; 5) niña de 4 años no tipificada y 6) niño de 9 años con la cepa B:4: P1. 7.1.

En el grupo etario de 4 a 19 años, al que fue dirigida la vacunación, la incidencia en el primer período fue 2,4/100.000 (8 casos), 4,6/100.000 (15 casos) en el segundo y 3,4/100.000 (11 casos) en el período posvacunal (figura 3).

La tabla 4 muestra el serotipo y subserotipo de *N. meningitidis* tipo B, responsable de los casos de EIM y su relación con la mortalidad.

En el segundo período sucedieron tres muertes, dos en menores de 4 años y una en el grupo de 4 a 19 años. La muerte ocurrida en el período posvacunal correspondió a

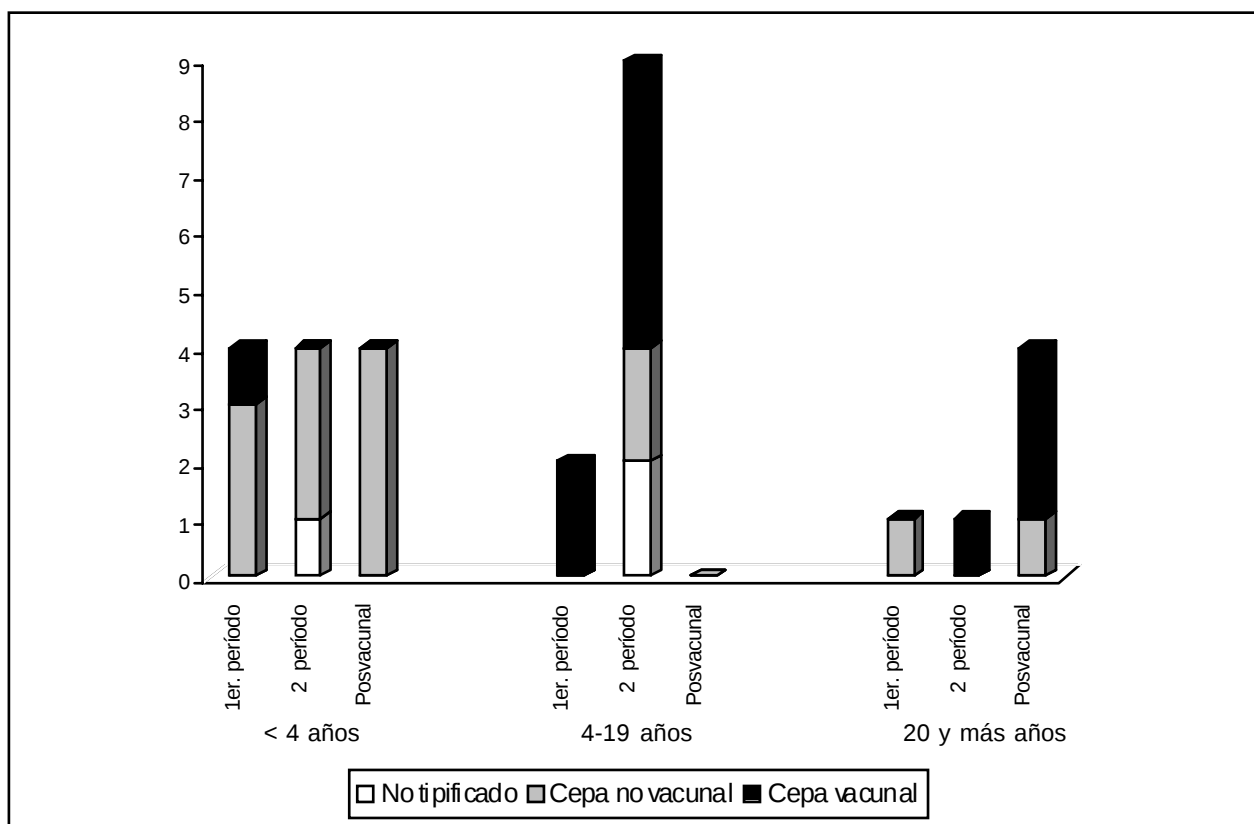
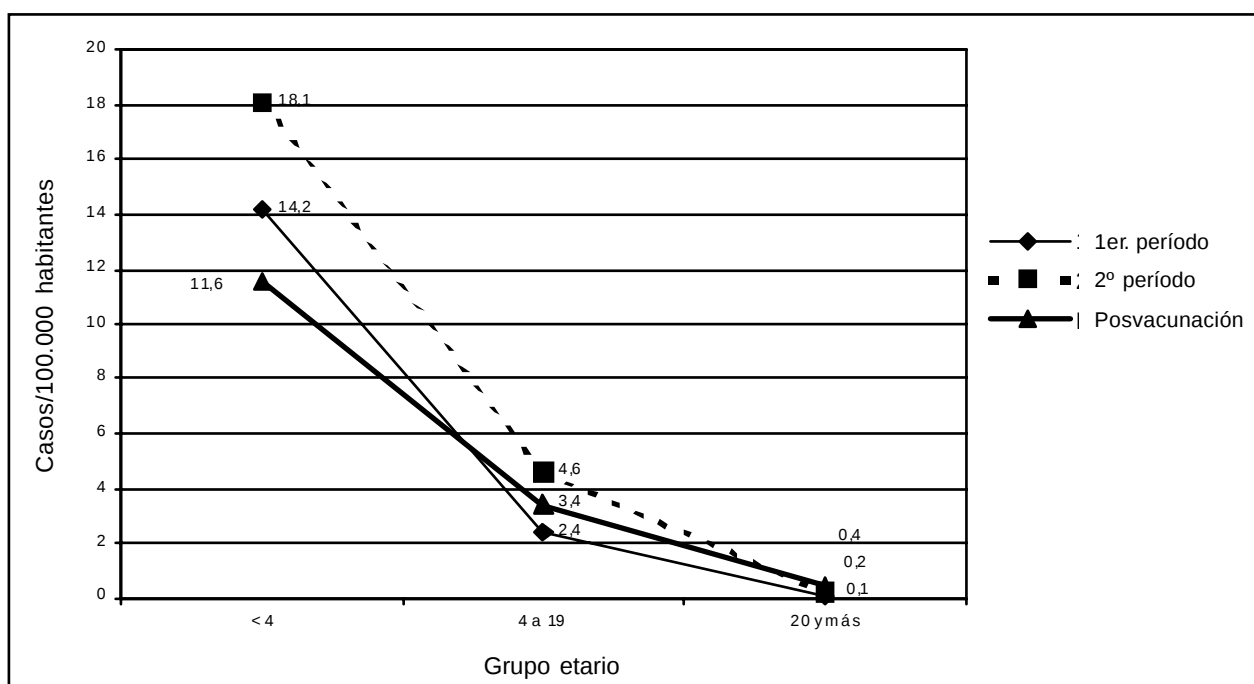


Figura 2. Distribución de la cepa vacunal según grupos de edad en cada período. Enfermedad invasiva meningocócica por *N.meningitidis* grupo B. Canelones: abril de 2000 - marzo de 2003

Tabla 3 - Características de los casos de EIM por *N. meningitidis* serogrupo B. Montevideo: agosto de 2000 - julio de 2003

		1er. período 1/8/00-31/7/01 N: 20	2 período 1/8/01- 31/7/02 N: 31	Posvacunal 1/8/02-31/7/03 N: 24
Sexo	Masculino	8	16	12
	Femenino	12	15	12
Clínica	Meningitis	15	18	18
	Meningococemia	5	13	6
Evolución	Alta	19	28	23
	Fallecimiento	1	3	1
	Letalidad	5%	10%	4%
Vacuna	Sí			
	Una dosis	0	1	3
	Dos dosis	1	1	6
	No	18	26	13
	Se desconoce	1	3	2

EIM: enfermedad invasiva meningocócica

**Figura 3.** Enfermedad invasiva meningocócica serogrupo B. Montevideo: agosto de 2000 - julio de 2003

un niño de 2 años de edad.

La figura 4 muestra la distribución de cepas vacunales y no vacunales causantes de EIM según grupo etario en los períodos analizados.

Discusión

La EIM es una de las más serias infecciones que genera

preocupación en el equipo de salud y la población. Existen estrategias de prevención adecuadas para el control de brotes o epidemias. La utilización de vacunas polisacáridicas o polisacáridos conjugados con proteínas ha demostrado su eficacia en la prevención de enfermedad por los serogrupos A, C, Y y W135. El desarrollo de vacunas que protejan contra la infección por *N. meningitidis* grupo B ha sido abordado por diferentes gru-

Tabla 4. Enfermedad invasiva meningocócica por *N.meningitidis* serogrupo B Serotipo y subserotipo
Montevideo: agosto de 2000 - julio de 2003

Serotipo y subserotipo	1er. período 1/8/00-31/7/01		2 período 1/8/01-31/7/02		Posvacunal 1/8/02-31/7/03	
	N° casos	N° muertes	N° casos	N° muertes	N° casos	N° muertes
B:4, 7: P1. 15, 19	4	1	5	1	4	
B:4,7: P1.22	2		2			
B:4: P1.14			3		2	
B:4: P1. 16					1	
B:4,7: P1. 7,1			2		1	
B:4,7:P1.NST	1				1	
B:4 P1.NST					2	1
B:4,10:P1NST			1			
B:19,14:P1.10	1					
B:19,8,7:P1.19	2		1			
B:19, 1:P1NST	2					
B:19,7:P1 NST			1	1		
B:15: P1.16	1		2	1	6	
B:15: P1.14			2			
B:15 : NST			1		1	
B:14,14: P1.1,7	1		1			
B:1: P1 NST	1		3		1	
B: NST	5		5		5	
B: NT: P1.14			2			
Total	20	1	31	3	24	1
NST: no serotificado Ministerio de Salud Pública. Vigilancia Epidemiológica						

pos^(7,12,13).

En Uruguay, en el año 2001, se observaron indicadores epidemiológicos que señalaban la posibilidad de una epidemia⁽⁶⁾. La cepa predominante era la B:4,7: P1.19,15.

La vacuna desarrollada por el Instituto Finlay es preparada con esta cepa⁽⁷⁾. Existe suficiente información acerca de la efectividad de esta vacuna en la población mayor de 4 años y se ha recomendado su utilización para situaciones como la ocurrida en Uruguay^(3,14).

Después de una profunda revisión del tema y de la situación epidemiológica, las autoridades sanitarias del país resolvieron la inmunización de la población de 4 a 19 años con la vacuna preparada con proteína de membrana externa serotipo B 4,7 subserotipo 15,19 del Instituto Finlay.

La incidencia de la enfermedad después de un año de finalizada la campaña de inmunización en Canelones se situó en los valores previos al año 2001, con ausencia de casos en el grupo de 4 a 19 años, población objeto de la

vacunación. La incidencia en los niños menores de 4 años se mantuvo incambiada.

La disminución de casos –sobre todo de muertes– fue el hecho más importante observado después de la vacunación.

Los resultados de esta campaña coinciden con las comunicaciones de otros autores que demostraron la eficacia de esta vacuna en las personas mayores de 4 años⁽⁸⁻¹¹⁾.

No se pudo calcular la eficacia de la vacuna porque durante esta campaña no se llevó un registro individual de los niños vacunados, así como tampoco existen registros que permitan conocer el número de niños vacunados previamente a la campaña. En Canelones no se presentaron casos en pacientes vacunados, lo que permite suponer que la eficacia fue alta en esta población. La aparición de casos en los que se aisló la cepa vacunal en pacientes mayores de 20 años indica que la cepa continuaba circu-

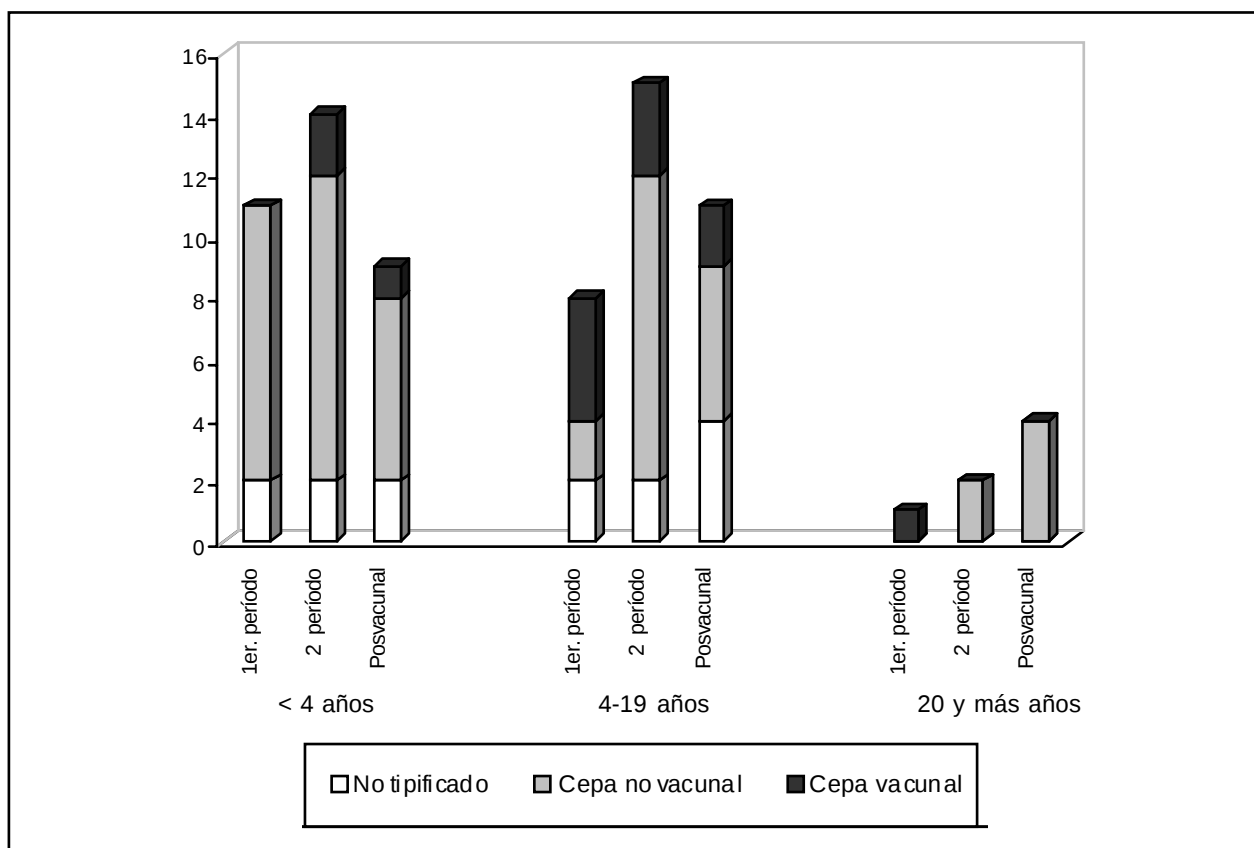


Figura 4. Distribución de la cepa vacunal según grupos de edad en cada período. Enfermedad invasiva meningocócica por *N.meningitidis* grupo B. Montevideo: agosto de 2000 - julio de 2003

lando en la población. En estudios realizados en Brasil y Cuba la eficacia en mayores de 4 años varió entre 71% y 84% según el grupo etario y el momento epidémico en el que se vacunó^(3,8-11).

En Montevideo la vacunación se realizó un mes después de finalizada la campaña en Canelones. Se observó una disminución del número de casos en el año posterior a la vacunación. En Montevideo sucedieron seis casos de EIM en niños vacunados con dos dosis de vacuna antimeningocócica B-C. La eficacia de la vacuna se sitúa en alrededor de 80%, lo que podría explicar los casos que se presentaron en niños vacunados. Tres de estos casos fueron debidos a la cepa vacunal.

El análisis de los resultados de esta campaña permite catalogarla de exitosa, ya que logró el objetivo de reducir el número de casos en el grupo etario donde predominaban y en especial disminuir los casos fatales. La decisión de vacunar precozmente cuando hay indicadores que señalan el comienzo de una epidemia por *N. meningitis* grupo B es recomendada por algunos autores^(3,14). Esta recomendación se ajustaba a la situación epidemiológica relatada. La disponibilidad de una vacuna con eficacia y tolerancia adecuadas hizo posible su utilización para controlar este brote epidémico⁽¹⁵⁾.

Las epidemias por meningococo B se caracterizan por iniciarse lentamente, alcanzar tasas de 5 a 20/100.000 habitantes por año y persistir por cinco a diez años⁽⁴⁾. Por ejemplo, en Nueva Zelanda, país con una incidencia de 1,6/100.000 en la preepidemia, alcanzó una incidencia de 16,9/100.000 en 1997 para mantenerse hasta el año 2000 con una incidencia anual de 13,9/100.000 habitantes⁽⁵⁾. En ese país se realizaron ensayos para lograr una vacuna adecuada⁽¹²⁾. Se ha señalado la importancia de disponer de vacunas que permitan controlar estos brotes epidémicos antes de que se instale una epidemia de la magnitud de las descritas en Cuba, Brasil, Noruega, Nueva Zelanda, Estados Unidos (Oregon)^(3,4,13,14).

La decisión adoptada en Uruguay de actuar al inicio del brote epidémico, la diferencia con otras situaciones en que se ha utilizado esta vacuna cuando la epidemia ya estaba instalada⁽⁸⁻¹¹⁾, constituye un aporte interesante al tema.

Aún continúan la discusión y las investigaciones sobre la protección para cepas homólogas versus la protección para cepas homólogas y heterólogas incluidas en las vacunas^(12,16,17).

Avances en el estudio de la eficacia de las vacunas preparadas con proteínas de membrana externa, en los

conocimientos de la respuesta inmunológica a la EIM y a las vacunas antimeningocócicas, así como disponer de pruebas adecuadas para medir esta respuesta, seguramente permitirán el desarrollo de nuevas vacunas o la mejor utilización de las disponibles hoy día para prevenir las epidemias de *N. meningitidis* grupo B⁽¹⁶⁻¹⁹⁾.

Las nuevas vacunas conjugadas (antimeningocócica conjugada C, antimeningocócica conjugada A + C + W 135 + Y), obligan a mantenerse atentos a la posibilidad de nuevos recursos para la prevención de esta enfermedad^(20, 21).

La meta de prevenir la EIM por meningococo grupo B no se ha alcanzado. Quedan muchos aspectos a investigar sobre las vacunas existentes, como su eficacia en los menores de 4 años, protección cruzada contra otros subserotipos, número de dosis, duración de la protección, etcétera^(12,16). No se descarta la posibilidad de desarrollar nuevas vacunas.

Estos datos permiten concluir que la vacunación con la vacuna antimeningocócica B-C fue útil para el control del brote epidémico del año 2001 en Canelones y Montevideo, Uruguay.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer especialmente a los doctores Mariela Savio y Sergio Curto, del Área de Vigilancia Epidemiológica del Ministerio de Salud Pública, por la disposición para el análisis y la revisión permanente de los casos.

Summary

Background. In July 2001, some events indicated a possible variation in the course of invasive meningococcal disease (EIM) by *Neisseria meningitidis* serogroup B showing a transformation from an endemic to an epidemic form of the disease. The epidemic peak occurred from May to July 2001 in Santa Lucía with an incident rate of 30 cases/100 000 inhabitants, led to a discussion within the public health authorities and concluded with a vaccination for children over 4 years and youths under 19 years all over the country.

BC antimeningococcal vaccine from Finlay (Cuba) was chosen to prevent the disease.

Objective. To analyze EIM cases occurred after vaccination with BC antimeningococcal vaccine in Canelones (443 053 inhabitants) from April 2002 to March 2003 and Montevideo (1 344 839 inhabitants) from August 2002 to July 2003.

Methods. EIM cases reported to the Epidemiologic Department of the Public Health Minister (Area de Vigilancia Epidemiológica-MSP) after vaccination were

analyzed and compared to cases occurred the prior two years. Variables analyzed were age, clinical presentation, BC antimeningococcal vaccine, clinical evolution, serotype and subserotype *N. meningitidis* serogroup B.

Results. a) Canelones: From April 1, 2000 to March 31, 2001 the incidence was 1.5 cases/100 000 inhabitants, from April 1, 2001 to March 31, 2002 the incidence doubled to 3.4/100 000, but decreased to 1.8/100 000 after vaccination. Mortality was 27% during epidemic peak and 12.5% after vaccination. In the 4-19 years old group incidence was 7.4/100 000 (from April 1, 2001 to March 31, 2002) with 3 deaths (all associated with strain B: 4.7: P11.19,15; there were no cases after vaccination. b) Montevideo: From August 1, 2000 to July 31, 2001 the incidence was 1.5 cases/100 000 inhabitants, from August 1, 2001 to July, 2002 the incidence increased to 2.3/100 000, and decreased to 1.8/100 000 after vaccination. Strain B was predominant in the first and second periods. Mortality was 5% from August 1, 2000 to July 31, 2001, 10% from August 1, 2001 to July 31, 2002 and 4.5% after vaccination. Out of the 24 cases occurred after vaccination, 6 presented in immunized patients. There were 15 cases in the 4-19 years old group from August 1, 2001 to July 31, 2002 and 11 after vaccination.

Discussion. The incidence of the disease was similar both for the period after the vaccination campaign and the period previous to 2001. There were no cases in the 4-19 years old group (objective population) in Canelones. There were no changes for the same age group in Montevideo. Vaccination-related deaths decreased.

Conclusion. BC antimeningococcal vaccine controlled the epidemic peak of 2001. Incidence and fatal deaths were reduced after vaccination.

Résumé

Introduction: en juillet 2001, en Uruguay, quelques événements ont alerté sur la possibilité d'un changement à l'évolution de la maladie invasive méningococcique, EIM par *Neisseria meningitidis* sérotype B et ont signalé la possibilité du passage du stade endémique au stade épidémique de la maladie. La hausse épidémique de mai-juillet 2001 à la ville de Santa Lucía (30 cas/100.000 habitants) a causé une discussion parmi les autorités sanitaires du pays, ce qui a mené à la vaccination de la population de 4-19 ans de cette ville et de ses alentours pour après s'étendre dans le reste du pays. On a utilisé le vaccin méningococcique B-C de l'Institut Finlay de Cuba.

But: analyser les cas de EIM survenus après la vaccination avec vaccin méningococcique B-C dans les départements de Canelones (443.053 habitants) et de Montevideo (1.344.839 hab.) en avril 2002-mars 2003 pour le premier et en août 2002-juillet 2003 pour Montevideo.

ARTÍCULO ORIGINAL/ARTIGO ORIGINAL

Prevalencia y dinámica de portadores asintomáticos de *Neisseria meningitidis* en estudiantes universitarios de una escuela militar de Ciudad de La Habana

Prevalence and dynamics of asymptomatic carriers of *Neisseria meningitidis* in university students at a military school in the City of Havana

Niury Núñez Gutiérrez¹, Isabel Martínez Motas², Luis Izquierdo Pérez³, Mayelin Mirabal Sosa⁴, Gustavo Sierra González⁵

¹Lic. Bioquímica. MsC. Bacteriología - Micología. Instituto Finlay. Centro de Investigación - Producción de Vacunas, Ciudad de La Habana, Cuba. ²PhD. Médico Especialista de 2º Grado en Microbiología. Investigador Titular. Instituto Finlay. Centro de Investigación - Producción de Vacunas, Ciudad de La Habana, Cuba.

³Lic. Matemática. Investigador Agregado. Instituto Finlay. Centro de Investigación - Producción de Vacunas, Ciudad de La Habana, Cuba.

⁴Lic. Matemática. Instituto Finlay. Centro de Investigación - Producción de Vacunas, Ciudad de La Habana, Cuba. ⁵PhD. Médico Especialista de 2º Grado en Inmunología. Investigador Titular. Académico Titular de la Academia de Ciencias de Cuba. Instituto Finlay. Centro de Investigación - Producción de Vacunas, Ciudad de La Habana, Cuba.

Conflicto de intereses: ninguno

Rev. Panam Infectol 2006;8(1):9-17

Recibido el 12/9/2005.

Aceptado para publicación el 8/2/2006.

Resumen

Los estudios de portadores proporcionan datos útiles para el seguimiento epidemiológico de la enfermedad meningocócica. Las evidencias indican que un aumento del índice de portadores de *N. meningitidis* suele preceder y acompañar a brotes y epidemias. *Neisseria meningitidis* es un patógeno humano estricto y muchos casos invasivos ocurren sin el contacto previo con otros enfermos, luego los portadores asintomáticos deben ser la principal fuente de infección. Para conocer la prevalencia y dinámica de portadores en estudiantes universitarios de una escuela militar de Ciudad de La Habana, durante un período de baja endemividad (marzo-junio, 1999), se realizó un estudio longitudinal observacional durante cuatro meses, en 163 alumnos. En todos se tomó, el primer lunes de cada mes, exudado de la nasofaringe posterior, según el método convencional del hisopado y siembra en medio de cultivo selectivo. Además, se elaboró una encuesta para analizar los posibles factores de riesgo que favorecen al estado de portador. *N. meningitidis* se identificó por técnicas convencionales, los sero/subtipos e inmunotipos se clasificaron por ELISA de células enteras con anticuerpos monoclonales. Se observó una prevalencia de portadores del 32% y una dinámica caracterizada por el predominio de portadores persistentes (61%). Los fenotipos NA:NT:P1.NST:L3.7.9 (25%), NA:NT:13:L3,7,9 (19%) fueron los más frecuentes y sólo el 7.6% resultó B4:P1.15:L3.7.9, fenotipo causal de la epidemia ocurrida en Cuba. La reducción del índice de portadores de la cepa epidémica, así como la ausencia del serogrupo C, está relacionada con la inmunización masiva realizada en Cuba con VA-MENGOC-BC, entre 1987-90 y con su incorporación al Programa Nacional de Inmunizaciones, desde 1991.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*, enfermedad meningocócica, portadores, asintomáticos, prevalencia, dinámica, factores de riesgo

Abstract

Carrier studies provide data of extraordinary value for the epidemiological follow-up of the meningococcal disease. There are proven relations between the strains detected in carriers and patients in the same regions or localities. An increase in the number of carriers usually precedes and accompanies outbreaks and epidemics. Taking into account that *N. meningitidis* is a strict human pathogen and that many cases occur without a previous contact with other patients, the main source of infection should be the asymptomatic carriers. A longitudinal observational study was made during 4 months in 163 students in order to find the prevalence and dynamics of carriers in a university military school in the City of Havana, during a period of low incidence of the disease (March-June, 1999). Nasopharyngeal swabs were taken according to the conventional method and culture in selected culture media. Additionally, a survey was elaborated to analyze the possible risk factors that favour the state of carriers. *N. meningitidis* was identified by conventional techniques, sero/subtypes and immunotypes were classified by ELISA with monoclonal antibodies. There was a carrier prevalence of 32%, with a dynamic characterized by the predominance of persistent carriers (61%), phenotypes NA:NT:P1.NST:L3.7.9 (25%), NA:NT:P1.13:L3.7.9 (19%), and only 7.6% was B4:P1.15:L3.7.9, the phenotype that caused the epidemic occurred in Cuba. The reduction in the number of carriers of this epidemic strain, as well as the absence of serogroup C, is related with the massive immunization carried out in Cuba with VA-MENGOC-BC from 1987-90 and later, 1991 it's incorporation to the National Immunization Program.

Key words: *Neisseria meningitidis*, meningococcal disease, asymptomatic carriers, prevalence, dynamics, risk factors.

Introducción

Neisseria meningitidis, agente etiológico de la enfermedad meningocócica (EM), es un comensal obligado del hombre, coloniza la mucosa nasofaríngea y ocasiona el estado de portador asintomático. La mayoría de los individuos colonizados no presentan manifestaciones clínicas invasivas. No obstante, una minoría puede desarrollar meningococemia, u otro cuadro clínico⁽¹⁾.

Las medidas aplicables para la prevención y control de la EM son la quimioprofilaxis e inmunoprofilaxis, ambas pueden desempeñar un papel importante en el control de los portadores^(2,3). Sin embargo, la emergencia de cepas resistentes cifra en la inmunoprofilaxis la esperanza del control efectivo de esta entidad clínica^(1,3).

Los portadores se reconocen desde 1890, el papel que desempeñan y su relación con los casos clínicos invasivos no está aún totalmente definido. Sin embargo, el estudio de los mismos facilita datos de extraordinario valor para el seguimiento epidemiológico de la EM. Existen relaciones probadas entre las cepas aisladas de enfermos y portadores, así como un aumento del índice de portadores en etapas epidémicas y pre-epidémicas, con su disminución en períodos inter-epidémicos, junto a una pérdida de los factores de virulencia de cepas de portadores aisladas en este etapa^(1,2). Presumiblemente, los portadores constituyen el principal vehículo de transmisión de *N. meningitidis*, al ser este microorganismo un patógeno humano estricto y producir casos invasivos, sin el antecedente previo de un contacto con otro enfermo; la fuente de infección, sin dudas, la constituye el portador asintomático^(1,2). Este también puede actuar como un elemento inmunizante, capaz de generar anticuerpos protectores^(1,2,3). Conocer la prevalencia y marcadores epidemiológicos de cepas aisladas de portadores permite comprender mejor la epidemiología de la EM, hacer una selección adecuada de los quimioprofilácticos a suministrar entre los contactos de casos clínicos y puede demostrar también el efecto de las vacunas disponibles en poblaciones inmunizadas^(1,2,3,4).

Durante etapas endémicas, la prevalencia de portadores fluctúa entre el 5-40%⁽⁴⁾, cifra que puede ser más elevada en instituciones cerradas, pequeñas comunidades étnicas y contactos de casos clínicos invasivos^(1,2,5). La duración del estado de portador puede ser crónica, perdurar varios meses, intermitente o transitoria⁽¹⁾.

Debido a la ausencia de una vacuna eficaz contra *N. meningitidis* serogrupo B, al comienzo de la epidemia de EM en Cuba, y constituir esta enfermedad el principal problema de salud en la década del 80, se desarrolló y evaluó, entre 1982-89, la vacuna antimeningocócica cubana contra los serogrupos B y C (VA-MENGOC-BC). En 1989 se realizó una campaña de vacunación a la población de tres meses a 24 años; en 1991, se incorporó al Programa Nacional de Inmunización (PNI) y a partir de esa fecha, todos los lactantes reciben dos dosis (a los tres y cinco meses de edad)⁽⁶⁾. La amplia cobertura alcanzada jugó un papel decisivo en la reducción y control de la epidemia de Cuba^(6,7,8); actualmente, sólo se notifican casos aislados (incidencia 0.3/100 000 habitantes). Después de 13 años de la incorporación de VA-MENGOC-BC al PNI, resulta de gran interés realizar estudios de portadores en diferentes grupos de riesgo. Este trabajo se realizó con el objetivo de conocer la prevalencia y dinámica de la portación de *N. meningitidis*, los factores de riesgo asociados y los fenotipos más frecuentes en estudian-

tes universitarios de una escuela militar, vacunados con VA-MENGOC-BC.

Pacientes, materiales y métodos

Se realizó un estudio longitudinal observacional de portadores de *N. meningitidis* durante los meses de marzo, abril, mayo y junio del año 1999, previa aprobación del Comité de Ética del Instituto Finlay y el consentimiento informado de los participantes. Su diseño y ejecución cumplió con los principios éticos para las investigaciones médicas en los seres humanos, contenidos en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, con los enunciados aprobados en la 52ª Asamblea General celebrada en Edimburgo, Escocia, en octubre del 2000⁽⁹⁾.

De los 285 estudiantes universitarios, matriculados en una escuela militar de Ciudad de La Habana y con edades comprendidas entre 17-22 años, 163 cumplieron con los criterios de inclusión: voluntariedad, permanencia en la institución durante toda la investigación y no estar bajo tratamiento con antimicrobianos, inmunosupresores, u otros medicamentos que pudieran interferir con los resultados del estudio, siete días antes de tomar la muestra.

Definición operacional de las variables estudiadas

Para cumplimentar los objetivos del trabajo respecto a los factores de riesgo o variables que influyen sobre el estado de portador, todos los estudiantes llenaron una encuesta. Se utilizaron las siguientes definiciones operacionales:

1. Estado de portador

Portador ocasional: Alumno con un sólo aislamiento de *N. meningitidis* en los cuatro meses; portador intermitente: Alumno con dos aislamientos de *N. meningitidis* en los cuatro meses y portador persistente: Alumno con aislamiento de *N. meningitidis* en tres ó cuatro de los meses investigados.

2. Hábito de fumar

Fumador: Alumno que consumía cualquier cantidad de cigarrillos al día; no fumador: Alumno sin exposición activa al cigarro; fumador pasivo: Alumno que convivía con al menos un fumador.

3. Hacinamiento

Para los alumnos internos: Si en el dormitorio, la distancia entre literas era menor a un metro y para los externos: Si compartían el dormitorio con más de dos personas.

4. Infección respiratoria aguda reciente (IRAR):

Alumno con síntomas respiratorios un mes anterior a la toma de muestra y que remitieron espontáneamente.

5. Consumo de bebidas alcohólicas

Abstinentes total: Alumno que nunca consumía bebidas alcohólicas; bebedor excepcional: Alumno que

consumía bebidas alcohólicas en cantidades limitadas y situaciones especiales; bebedor social: Alumno que consumía bebidas alcohólicas sin transgredir las formas sociales; alcohólico: Alumno dependiente o adicto a las bebidas alcohólicas y que mostraba una forma acumulativa de conductas asociadas al consumo de las mismas.

Amigdalectomía: Alumno con extirpación quirúrgica de las amígdalas.

Exudado nasofaríngeo

Se realizó exudado de la nasofaringe posterior con hisopo de algodón estéril. Inmediatamente, éste se sembró en placas de Agar Mueller Hinton (Merck) con suero fetal bovino al 5% (Hyclone) y suplemento inhibidor VCN (bioMérieux), compuesto por: vancomicina (3 µg/mL), colistina (750 µg/mL) y nistatina (150 µg/mL). En un lapso de tiempo no mayor a las dos horas, las placas inoculadas se trasladaron al Laboratorio de Microbiología del Instituto Finlay, donde se estiraron e incubaron a 37°C y atmósfera húmeda con un 5-10% de CO₂. La lectura se realizó a las 24 y 48 horas de incubación. Se hizo exudado nasofaríngeo a 163 estudiantes; a cada uno se les tomó un cultivo el primer lunes de cada mes, durante los meses de marzo, abril, mayo, junio de 1999. Se realizaron y procesaron un total de 652 muestras.

Identificación y caracterización de las cepas de *N. meningitidis*

A partir de cada exudado, se aislaron las colonias con características culturales similares a *N. meningitidis* y se identificó género y especie, según los métodos convencionales⁽¹⁰⁾. El seroagrupamiento se realizó por aglutinación en lámina con antisueros serogrupo específicos: A, B, C, X, Y, Z, y W135 (Difco)⁽¹⁰⁾. Posteriormente, para la identificación de serotipos, subtipos e inmunotipos, se empleó un ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM)⁽¹¹⁾. Para el sero/subtipaje se disponía del paquete comercial del RIVM (Instituto Nacional de Investigaciones para el Hombre y el Ambiente de Holanda), con 6 AcM de serotipo y 13 de subtipos. En el inmunotipaje, se emplearon los AcM: L3,7,9; L8 y L10, producidos por el NIBSC (Instituto Nacional para el Control Biológico y Estándares del Reino Unido).

Análisis estadístico

En el análisis estadístico se aplicó: El test Chi-cuadrado, para evaluar de forma aislada el impacto de cada supuesto factor de riesgo; estimación por intervalos de confianza para proporciones, según el método aproximado de Wilson; y regresión logística, para analizar los posibles factores de riesgo de manera conjunta.

Tabla 1. Prevalencia de portadores de *N. meningitidis* en 163 estudiantes, según el número de casos positivos y porcentajes detectados, en cada uno de los meses investigados

Meses Muestreados	Alumnos Investigados	Portadores <i>N. meningitidis</i>		Intervalo de Confianza	
		No	%	LI	LS
Marzo	163	44	26.99	20.76668	34.28046
Abril	163	44	26.99	20.76668	34.28046
Mayo	163	32	19.63	14.26344	26.39879
Junio	163	33	20.24	14.79483	27.06615

Leyenda: LI = Límite inferior; LS = Límite superior

Resultados

Entre los 163 individuos investigados cada mes, el 32% resultó ser portador de *N. meningitidis*, porcentaje que incluyó a todos los estudiantes en los cuales se aisló e identificó este microorganismo. De los 44 alumnos que cursaban el primer año académico, el 41% (IC 95%:27.7%-55.6%) fueron portadores. Mientras que, en los 119 estudiantes del tercer año, sólo el 28% (IC 95%:21.2%-37.3%) mostró dicha condición.

Al analizar la dinámica del estado de portador durante los cuatro meses investigados (tabla 1), los porcentajes de prevalencia resultaron similares. El mayor número se detectó en los meses de marzo y abril (44 estudiantes). Mientras que, en mayo y junio, existió una ligera disminución del número de portadores de *N. meningitidis* (32 y 33 estudiantes), respectivamente. Sin embargo, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa.

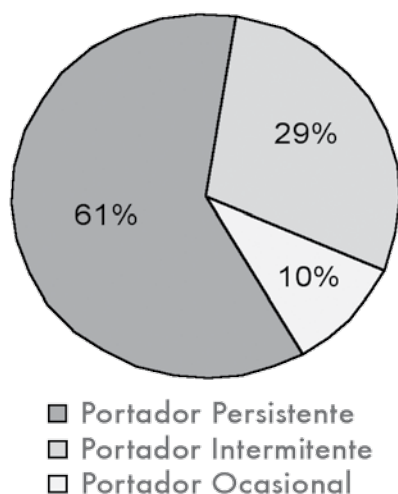


Figura 1. Dinámica del estado de portador de *N. meningitidis* en los 163 estudiantes investigados

Al analizar la dinámica del estado de portador, del total de estudiantes identificados como portadores de *N. meningitidis*, el 90.4% mantuvo esta condición por más de una ocasión (IC 95%:79.4%-95.9%), es decir, prácticamente mantuvieron esta condición durante todo el período investigado.

Según la dinámica del estado de portador (figura 1), predominaron los portadores persistentes (61%), mientras que los intermitentes (29%) y ocasionales (10%) se identificaron en un porcentaje menor.

Los marcadores epidemiológicos se muestran en la tabla 2. Predominaron las cepas no agrupables (79%), no tipables (79%), no subtipables (36%) y el inmunitipo L3,7,9 (94%), con una mayor diversidad entre los subtipos identificados.

Las asociaciones fenotípicas fueron diversas (tabla 3), prevalecieron las cepas NA:NT:P1.NST:L3,7,9 (25%), NA:NT:P1.13:L3,7,9 (19.2%) y las B:4:P1.15:L3,7,9 (7.6%). El resto, mostró porcentajes inferiores.

Tomando en cuenta la dinámica del estado de portador y la distribución fenotípica, las cepas NA:NT:P1.NST:L3,7,9 y NA:NT:P1.13:L3,7,9 fueron las más frecuentes entre los portadores persistentes, intermitentes y ocasionales. Sin embargo, el fenotipo B:4:P1.15:L3,7,9 no se aisló en los portadores ocasionales (tabla 3).

En ninguno de los parámetros analizados como posibles factores de riesgo para el estado de portador de *N. meningitidis* (hábito de fumar, consumo de bebidas alcohólicas, hacinamiento, antecedente de IRA y amigdalectomía) se demostró una asociación estadísticamente significativa ($P > 0.05$) (tabla 4). Resultados similares se obtuvieron al asociar la dinámica del estado de portador con los factores de riesgo investigados.

Discusión

Se detectó una prevalencia de portadores de *N. meningitidis* similar a la descrita en poblaciones mili-

Tabla 2. Marcadores fenotípicos entre las cepas de *N. meningitidis* aisladas

Marcadores fenotípicos	Clasificación	Nº aislamientos	%
Serogrupos	NA	41	79
	B	9	17
	W135	2	4
	Total:	52	Total: 100
Serotipos	NT	41	79
	15	5	10
	4	4	8
	14	2	4
	Total:	52	Total: 100
Subtipos	P1.NST	19	36
	P1.13	11	21
	P1.15	9	17
	P1.6	4	8
	P1.7	3	6
	P1.4	2	4
	P1.5	1	2
	P1.12	3	6
	Total:	52	Total: 100
Inmunotipos	L3,7,9	49	94
	NIT	2	4
	L10	1	2
	Total:	52	Total: 100

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

tares de otros países^(12,13,14). Sin embargo, estudios de portadores realizados anteriormente en Cuba notificaron porcentajes más bajos. Esos trabajos se ejecutaron en grupos donde las cifras de portadores suelen ser inferiores y ninguno correspondió a una población con características similares a la nuestra⁽⁶⁾. Al estar estos estudiantes militares sometidos a condiciones de vida que propician una mayor interacción social (maniobras militares, acampadas, movilizaciones, entre otras), se incrementa la transmisión de *N. meningitidis* entre los mismos.

El porcentaje de portadores coincide también con el descrito en personas cuya edad oscila entre 15-24 años, grupo donde señalan las cifras más elevadas (24-37%)^(15,16,17). Sin embargo, los niños pequeños y adultos mayores de 24 años muestran tasas inferiores al 10%^(1,5). Estudios de portadores realizados en Cuba, en niños de un círculo infantil y una escuela primaria de Ciudad de La Habana, señalan porcentajes del

4.3 y 6.9%, respectivamente^(18,19).

En individuos que ingresan por primera vez a la universidad o unidades militares, se notifica un ascenso rápido del número de portadores^(1,5). Este incremento se presenta durante el primer mes del curso académico y principalmente sucede en la primera semana de clases⁽²⁰⁾. Aunque nuestro trabajo no se realizó al inicio del curso académico, el número de portadores entre los alumnos del primer año superó la cifra detectada en los del tercer año (grupo mayoritario en este estudio). La diferencia entre ambos grupos pudo estar favorecida por los cambios de vida que enfrentan los jóvenes al iniciar estudios superiores o al incorporarse a un régimen militar.

En nuestro estudio, la mayoría de los portadores pertenecieron a la clasificación de persistente, es decir, mantuvieron esta condición durante el período investigado. La duración del estado de portador de *N. meningitidis* no está totalmente definida. Algunos estiman que puede variar entre 1-12 meses y mostrar diferencias según los serogrupos circulantes⁽²⁾. En europeos y americanos la duración media del estado de portador se estimó entre 9-10 meses^(5,21,22), en nigerianos resultó de 3 meses⁽²³⁾ y entre alemanes adolescentes el promedio fue de 10 semanas⁽²⁴⁾. En portadores de *N. meningitidis* A, se describen altas tasas de adquisición y una corta permanencia de este serogrupo en la nasofaringe⁽²²⁾. Mientras que en portadores del serogrupo B señalan bajas tasas de adquisición y una permanencia mayor de 12 meses, discrepancia quizás influenciada por la diferencia existente en el poder inmunizante de ambos serogrupos^(22,25).

En reclutas que iniciaron su vida militar en Dinamarca, después de transcurrir los tres primeros meses de convivencia, observaron variaciones en la detección de portadores ya desde el primer mes de su incorporación al campamento militar, el 20% de los no-portadores adquirieron la condición de portador asintomático⁽²⁶⁾.

La técnica del hisopado de la nasofaringe y los métodos de laboratorio empleados pueden influir en la tasa e intermitencia de los portadores. Los estudios puntuales no aportan datos acerca del tiempo de portación, mientras que los hisopados repetidos en un mismo individuo dan idea de su persistencia, sin estar exentos de dificultades en cuanto al diseño e interpretación^(5,27). Para algunos, la sensibilidad del cultivo de la nasofaringe, empleando el método convencional del hisopado y siembra en un medio selectivo, oscila entre el 60-83%⁽²⁸⁾. Otros consideran que el método convencional subestima la cantidad de portadores a identificar, recomendando la incorporación de otros métodos que posibiliten mayores porcentajes de detección^(1,27,29).

Tabla 3. Asociaciones fenotípicas de cepas de *N. meningitidis*, según la dinámica del estado de portador

Fenotipos	Portador Persistente		Portador Intermitente		Portador Ocasional	
	No	%	No	%	No.	%
NA:NT:P1.NST:L3,7,9	9	28.1	3	20	2	40
NA:NT:P1.13:L3,7,9	6	18.7	3	20	1	20
B:4:P1.15:L3,7,9	3	9.4	1	6.6	0	0
NA:NT:P1.12:L3,7,9	2	6.25	0	0	1	20
NA:15:P1.6:L3,7,9	2	6.25	2	13.3	0	0
B:NT:P1.15:L3,7,9	0	0	1	6.6	0	0
W135:NT:P1.NST:L3,7,9	0	0	2	13.3	0	0
NA:15:P1.6L:3,7,9	0	0	0	0	0	0
NA:NT:P1.7L:3,7,9	1	3.1	1	6.6	0	0
NA:NT:P1.15:L:3,7,9	2	6.25	1	6.6	0	0
B:NT:P1.4:L3,7,9	1	3.1	0	0	0	0
NA:15:P1.NST:L3,7,9	0	0	1	6.6	0	0
NA:NT:P1.4:L3,7,9	1	3.1	0	0	0	0
NA:14:P1.7:L3,7,9	1	3.1	0	0	0	0
NA:NT:P1.NST:L10	0	0	0	0	0	0
NA:NT:P1.NST:NIT	1	3.1	0	0	1	20
B:NT:P1.14:L3,7,9	1	3.1	0	0	0	0
NA:14:P1.NST:L3,7,9	1	3.1	0	0	0	0
B:NT:P1.13:L 3,7,9	1	3.1	0	0	0	0
NA:NT: P1.5:L3,7,9	0	0	0	0	0	0
Total	32	100	15	100	5	100

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

La caracterización fenotípica sobre la base de los marcadores epidemiológicos de *N. meningitidis* resulta fundamental para investigar cepas de enfermos y portadores^(1,2). Este trabajo mostró un franco predominio de cepas NA, diferente al observado en cepas de portadores aisladas en Cuba durante la etapa epidémica^(6,30,31).

La heterogeneidad y variabilidad entre las cepas aisladas corresponden con lo descrito por otros investigadores^(1,5,14). Por haber realizado este trabajo, en la etapa posterior a la aplicación masiva de VA-MENGOC-BC y en una etapa de baja endemidad, el fenotipo B:4:P1.15:L3,7,9 se constató en un número reducido de estudiantes; cepas B:4:P1.15:L3,7,9 y pertenecientes al complejo clonal ET-5, resultaron el principal agente etiológico de la epidemia ocurrida en Cuba durante la década del 80^(8,18,31,32).

La efectividad de VA-MENGOC-BC, junto a la alta cobertura nacional alcanzada y su aplicación sistemá-

tica a lactantes desde 1991, como parte del PNI, logró el control exitoso de la EM en Cuba^(6,7). Desde hace varios años la incidencia es muy baja y sólo se notifican casos aislados⁽⁸⁾. El predominio de cepas NA sugiere que el efecto ejercido por VA-MENGOC-BC pudo contribuir a la pérdida de los atributos de virulencia en las cepas circulantes, ejerciendo un efecto favorable en el control de la EM^(7,18,30). En este trabajo, sólo un reducido número de cepas correspondió al fenotipo epidémico (B:4:P1.15:L3,7,9).

No se detectó al serogrupo C, ni tampoco lo señalan otros estudios realizados en Cuba durante este período endémico. Su ausencia debe estar vinculada con la aplicación de VA-MENGOC-BC; su administración pudo contribuir a eliminar la circulación del serogrupo C, en enfermos y portadores^(18,19,30,31). Esto no se consiguió después de la inmunización con la vacuna A +C de polisacáridos.

Estudios de portadores realizados en otros países identifican a las cepas NA entre las más frecuentes. La mayoría se comportan probablemente como comensales del tracto respiratorio superior y no expresan polisacárido capsular (PC)⁽¹⁶⁾. Debido a que la invasión en un huésped inmunocompetente depende de la expresión del PC, particularmente de los serogrupos: A, B o C, las cepas que no expresan PC (o expresan otros) poseen limitado potencial patogénico. Esto probablemente reporta un beneficio, propiciando un efecto de refuerzo al sistema inmune a través de la expresión de otras estructuras inmunológicas de superficie⁽⁵⁾. Además, el alto grado de diversidad genética de las poblaciones de *N. meningitidis* se atribuye a su capacidad para expresar nuevos genotipos a través del proceso de recombinación genética^(4,5,16,33). En investigaciones realizadas en Cuba, el predominio de cepas NA resultó mayor en los trabajos de portadores realizados en la etapa posterior a la inmunización masiva con la vacuna antimeningocócica cubana^(18,19,30,31).

El serogrupo W135 se identificó en un número reducido de alumnos. Sin embargo, actualmente, se notifica como agente etiológico frecuente de EM en

Tabla 4. Factores de riesgo y su relación con la condición del estado de portador de *N. meningitidis*, según los métodos estadísticos aplicados

Factor de Riesgo	Portador		No Portador		Total	χ^2	RL
	Nº	%	Nº	%		p	p
Fumador	17	36.16	30	63.83	47	0.58	0.3262
No fumador	35	30.17	81	69.85	116		
Fumador pasivo	27	30.68	61	69.3	88	0.85	0.7136
No fumador pasivo	25	33.3	50	66.6	75		
Hacinamiento	32	36	57	64	89	0.29	0.2778
No-hacinamiento	20	27	54	73	74		
Presencia de IRAR	40	36	71	64	111	0.14	0.1799
Ausencia de IRAR	12	23	40	77	52		
Consumo bebidas alcohólicas	6	30	14	70	20	0.95	0.941
No consumo bebidas alcohólicas	46	32.2	97	67.8	143		
Amigdalectomía	5	38.5	8	61.5	13	0.82	0.542
No amigdalectomía	47	31.3	103	68.7	150		

Leyenda χ^2 = Chi cuadrado; RL = Regresión logística; IRAR = Infección respiratoria aguda reciente

varios países, vinculado fundamentalmente con la peregrinación de los musulmanes a la Meca. Debido al mayor intercambio y convenios de colaboración existentes entre las diversas regiones del mundo, se recomienda estar atento a su circulación, con vistas a tomar las medidas pertinentes y controlar la aparición de brotes y epidemias⁽³⁴⁾.

Se identificaron también los serotipos 4, 15 y 14, aunque con cifras muy inferiores a las cepas NT. Sin embargo, la asociación del serotipo 4 con el serogrupo B ha sido muy frecuente en Cuba entre cepas invasivas aisladas en la etapa epidémica y post-epidémica^(6,31,32). En España y Francia, el serotipo 4 se asocia frecuentemente a cepas del serogrupo B^(35,36). A diferencia de la poca variabilidad detectada entre los serogrupos y serotipos de las cepas identificadas en este trabajo, los subtipos mostraron una gran diversidad, similar a la descrita en otros trabajos realizados en Cuba⁽³¹⁾ y otros países⁽³⁶⁾.

El número de cepas no inmunotipables (NIT) fue bajo. Algunos autores coinciden en señalar a los inmunotipos L8, L3,7,9 y L1, entre los más frecuentes⁽³⁷⁾. Otros estudios llevados a cabo en Cuba señalan al inmunotipo L3,7,9 como uno de los habituales tanto en enfermos como en portadores^(18,19,30,31).

Tomando en cuenta el análisis de las variables que influyen sobre el estado de portador, se conoce que, entre los fumadores activos y pasivos, se incrementa de forma significativa la colonización nasofaríngea por *N. meningitidis*. El hábito de fumar disminuye los niveles de IgA en la saliva, afecta la flora bucal,

e interfiere con la acción ciliar de las células de la mucosa respiratoria, reduciendo así las defensas locales frente a los gérmenes patógenos^(5,17,36,38). Los estudiantes incluidos en este trabajo no clasificaron como fumadores moderados, ni severos, grupos donde se describen las mayores posibilidades de colonización por *N. meningitidis*^(36,38).

Aunque, en nuestro estudio no se evidenció, el hacinamiento se asocia con un aumento de portadores y la ocurrencia de brotes de EM, sobre todo en aquellos individuos que conviven en unidades militares, escuelas con régimen de internado, prisiones y comunidades cerradas o semicerradas^(1,2). El hacinamiento que frecuentemente existe en las unidades militares aumenta la posibilidad del contacto con las secreciones salivales de los portadores sanos, y por tanto, la posibilidad de colonización por *N. meningitidis* resulta mayor^(1,5,36,38).

No existió relación entre la IRAR y el estado de portador, aunque algunos trabajos muestran resultados significativos cuando asocian la prevalencia de portadores con el antecedente de haber padecido una infección respiratoria aguda de etiología viral^(5,39).

Todas aquellas circunstancias que depriman al sistema inmune, tales como la malnutrición y el alcoholismo, entre otras, aumentan la susceptibilidad del huésped a la invasión por *N. meningitidis*, y a su vez, limitan la duración y extensión de la respuesta inmunológica frente a los determinantes antigénicos del microorganismo^(1,2,5,36). El no existir diferencias significativas entre portadores y el consumo de bebidas

alcohólicas pudo deberse a que la mayoría de los estudiantes investigados pertenecieron al grupo de no consumidores de alcohol.

Tampoco fue significativo el antecedente de amigdalectomía y el estado de portador. Algunos investigadores han observado que en individuos con extirpación quirúrgica de las amígdalas aumentó la colonización por *N. meningitidis* en los primeros tres meses posteriores a esta medida terapéutica. Comportamiento quizás relacionado con una disminución transitoria de la IgA, después de una amigdalectomía^(5,40).

Si bien actualmente se conocen muchos aspectos de los portadores asintomáticos de *N. meningitidis*, existen aún interrogantes. El desarrollo de técnicas moleculares y la realización de estudios que paralelamente analicen las cepas de enfermos y portadores, así como su virulencia, constituirán en el futuro herramientas básicas para comprender mejor la epidemiología de la EM y poner en marcha medidas útiles para su control⁽²⁾. La incorporación de los nuevos métodos moleculares aportará mayor información sobre la genética y relación biológica existente entre las poblaciones de *N. meningitidis*.

Referencias

1. Yazdankhah SP, Caugant DA. *Neisseria meningitidis*: an overview of the carriage state. J Med Microbiol 2004;53:821-32.
2. Arreaza L, Vázquez J. Portadores de meningococo: un enigma a finales del siglo XX. Enfer Infect Microbiol Clin 2000;18:352-355.
3. Maiden MCJ, Stuart JM, Bramley JC, MacLennan JM, Gray S, Andrew N. Carriage of serogroup C meningococci 1 year after meningococcal C conjugate polysaccharide vaccination. Lancet 2002;359:1829-31.
4. Yazdankhah SP, Kriz P, Tzanakaki G, Kremastinou J, Kalmusova J, Musilek M et al. 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.
5. Cartwright KAV. Meningococcal carriage and disease. In: Meningococcal Disease, Edited by Cartwright K. Chichester, UK: Wiley & Sons, Ltd; 1995; p. 115- 46.
6. Valcárcel NM, Rodríguez CR, Molinert HT. La enfermedad meningocócica en Cuba. Cronología de una epidemia. 1st ed. Ciencia Médicas, Ciudad Habana, Cuba; 1991.
7. Sierra GV, Campa HC, Valcarcel NM, Garcia IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. NIPH Ann 1991;14:195-07.
8. Perez Rodriguez A, Dickinson F, Baly A, Martínez R. The epidemiological impact of antimeningococcal vaccination in Cuba. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999;94:433-40.
9. World Medical Association, Declaration of Helsinki: Recommendation Guiding Physicians in Biomedical Research Involving Human Subjects. Adopted by the 18th World Medical Assembly, Helsinki, Finland, June 1964. Amended by the 29th World Medical Assembly, Tokyo, Japan, October 1975; the 35th World Medical Assembly, Venice, Italy, October 1983; the 41th World Medical Assembly, Hong Kong, September 1989, the 48th General Assembly, Somerset West, republic of South Africa, October 1996 and the 52th General Assembly, Edinburgh, Scotland, October 2000.
10. Knapp JS, Koumans EH. *Neisseria* and *Branhamella*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. ed. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. ASM Press, Washington D.C, 1999; p. 586-603.
11. Abdillahi H, Poolman JT. Typing of group-B *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies in the whole-cell ELISA. J Med Microbiol 1981;26:177-80.
12. Caugant DC, Høiby EA, Rosenqvist E, Frøholm LO y Selander RK. Transmission of *Neisseria meningitidis* among asymptomatic military recruits and antibody analysis. Epidemiol Infect 1992;109:241-253.
13. Djupesland P, Bjune G, Aanosen NO, Borchgrevink HM, Mundal R, Høiby EA. Systemic meningococcal disease in the Norwegian Army. Nord Med 1990;105:179-81.
14. Tyski S, Grzybowska W, Dulny G, Berthelsen L, and Lind I. Phenotypical and genotypical characterization of *Neisseria meningitidis* carriers strains isolated from Polish recruits in 1998. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2001;20:350-353.
15. Blackwell CC, Weir DM, James VS, Todd WT, Banatvala N, Chaudhuri AK et al. Secretor status, smoking and carriage of *Neisseria meningitidis*. Epidemiol Infect 1990;104:203-09.
16. Caugant DA, Høiby EA, Magnus P, Scheel O, Hoel T, Bjune G et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in a randomly sampled population. J Clin Microbiol 1994;32:323-30.
17. Kremastinou J, Tzanakaki G, Levidiotou S, Markou F, Themeli E, Voyiatzi A et al. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in northern Greece. FEMS Immunol Med Microbiol 2003;24:39:23-9.
18. Alvarez GN, Martinez MI, Sotolongo PF, Gutierrez VM, Zamora ML, Izquierdo L et al. *Neisseria meningitidis* carriers in a day-care center in the city of Havana. In: Abstracts of the 13th International Pathogenic *Neisseria* Conference. September 1-6. Oslo, Norway, 2002:329.
19. Martínez I, López O, Sotolongo F, Mirabal M, Bencomo A. Portadores de *Neisseria meningitidis* en niños de una escuela primaria. Rev Cub Med Tropical 2003;55:162-8.
20. Neal KR, Nguyen Van Tam 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.
21. De Wals P, Gilquin C, de Maeyer S, Bouckaert A, Noel A, Lechal MF et al Longitudinal study of asymptomatic meningococcal carriage in two Belgian populations of school-children. J Infect 1983;6:147-56.
22. Greenfield S, Shee PR, Feldman HA. Meningococcal

Caracterización fenotípica de cepas invasivas de *Neisseria meningitidis* aisladas en Cuba durante 20 años

Isabel Martínez, Gustavo Sierra, Niury Núñez, Luis Izquierdo, Yanet Climen, Mayelín Mirabal.

Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave.27 No. 19805. La Lisa. A.P. 16017, C.P.11600, Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: isabelm.motas@infomed.sld.cu; isamartinez@finlay.edu.cu

Se investigaron los marcadores epidemiológicos (serogrupos, serotipos, subtipos, inmunotipos) de 429 cepas invasivas, aisladas en Cuba durante 20 años (1982-2002). Basándonos en el comportamiento de la incidencia de la Enfermedad Meningocócica (EM) en el período investigado, las cepas se distribuyeron en dos etapas: epidémica y postepidémica. La epidémica, comprendió 279 cepas aisladas entre 1982-1992 y la postepidémica, incluyó 150 aislamientos pertenecientes al período comprendido entre 1993-2002. Todas se cultivaron en Agar Mueller Hinton con suero fetal bovino (5%) y se incubaron 24-48 horas, 37 °C, en atmósfera húmeda con 5% de CO₂. La identificación de género, especie y serogrupo, se realizó mediante métodos convencionales; para la caracterización de los sero/subtipos e inmunotipos, se utilizó el ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales. En ambas etapas predominó el serogrupo B (97,90%): epidémica (96,77%) y postepidémica (100%). Sin embargo, el serogrupo C (1,43%) y cepas no agrupables (1,8%), sólo se observaron en aislamientos de la etapa epidémica. Los otros marcadores prevalentes fueron: serotipo 4 (86,48%), subtipo P1.19,15 (78,32%), inmunotipo L3,7,9 (90,2%), todos mostraron cifras similares en ambos períodos. Predominó el fenotipo B:4:P1.19,15:L3,7,9 (69,69%), aunque, en la etapa postepidémica (77,34%), el porcentaje fue superior al de la etapa epidémica (65,66%) ($p<0,05$); además, en las cepas de este período, se observó una mayor diversidad de asociaciones fenotípicas. Los resultados obtenidos de esta caracterización fenotípica de las cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de enfermos aporta datos valiosos al estudio, prevención y control exitoso de la EM en Cuba.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*, enfermedad meningocócica, enfermos, marcadores epidemiológicos, fenotipos, vacuna antimeningocócica

Introducción

Después de transcurrir más de 200 años de investigación sobre el comportamiento de la enfermedad meningocócica (EM), esta entidad clínica constituye aún un problema de salud para muchas regiones del mundo. Su agente etiológico, *Neisseria meningitidis*, coloniza la nasofaringe humana, sin provocar, en la mayoría de los casos, signos clínicos evidentes de infección (1). En períodos endémicos, entre el 5-40% de la población puede ser portadora asintomática y constituir un elemento crucial para la diseminación de este microorganismo. Una minoría de los sujetos colonizados desarrollan alguna de las principales manifestaciones clínicas de esta enfermedad (2). La elevada morbilidad y temibles secuelas que produce la EM obliga a tomar medidas útiles para evitar y controlar la diseminación de brotes y/o epidemias (3).

La caracterización fenotípica de las cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos y portadores, sobre la base de sus marcadores epidemiológicos (serogrupo, serotipo, subtipo e inmunotipo), resulta una medida imprescindible para trazar una política adecuada de prevención, donde la vacunación ocupa un lugar impostergable (3,4). Inicialmente, las diferencias estructurales del polisacárido capsular (PC), permitieron la clasificación de *N. meningitidis* en serogrupos, posteriormente, el estudio de proteínas de membrana externa (PME) y lipooligosacáridos (LOS) posibilitaron la identificación de serotipos, subtipos e inmunotipos, respectivamente (4). Actualmente, la aplicación de los métodos moleculares, detecta las diferencias genéticas entre las cepas circulantes y amplía la información que brindan los métodos fenotípicos (5).

Los serogrupos A, B, C, Y, W-135, ocasionan la mayoría de los casos invasivos (1). La región del África Subsahariana, conocida como “cinturón de la meningitis”, presenta brotes recurrentes por *N. meningitidis* A (6) y recientemente notifican también la emergencia del W-135 (7). En Europa occidental y Estados Unidos prevalecen los serogrupos B y C. Sin embargo, a partir de la década del 90, Estados Unidos muestra el aumento de casos esporádicos y brotes ocasionados por *N. meningitidis* Y (1, 9).

Desde 1916, año a partir del cual se describen los primeros casos de EM en Cuba, hasta 1976, esta entidad clínica tuvo un comportamiento endémico y no constituyó un problema de salud. Sin embargo, en mayo de 1976, se observó el ascenso de casos invasivos y en 1979, predominaban los serogrupo C (50,9%) y B (34,3%), excepto en las provincias de mayor incidencia, donde prevalecía *N. meningitidis* B (10,11). Para controlar esta epidemia, en 1979, se aplicó la vacuna antimeningocócica A-C, en toda la población de 3 meses-19 años, intervención que disminuyó los casos del serogrupo C. Sin embargo, *N. meningitidis* B, ascendió vertiginosamente y la EM se convirtió en el principal problema de salud de Cuba. Se demostró que, en ese momento, el serogrupo B era el principal responsable de la epidemia, con el pico máximo de incidencia en 1983 (14,4 x 100 000 hab.). No obstante, en menores de un año, era superior (120/100 000 hab.) (11, 12, 13, 14). Por la situación epidémica existente y no disponer en ese momento de ningún preparado vacunal contra *N. meningitidis* B, se desarrolló y obtuvo VA-MENGOC-BC®, vacuna contra los serogrupos B y C. Después

de su evaluación, se realizó un ensayo de Fase III en el que participaron siete provincias del país, donde se inmunizaron 106 000 escolares de 10-16 años. La prueba se efectuó de manera randomizada, a doble ciego y con un grupo placebo como control. Los resultados alcanzados demostraron el impacto de VA-MENGOC-BC® entre los adolescentes vacunados (eficacia clínica del 83%), la disminución de la morbilidad en niños de 0-5 años y el descenso de la letalidad (12, 13). Después de transcurrir 20 años de la aplicación de VA-MENGOC-BC® en Cuba y 13 años de su incorporación al Programa Nacional de Inmunización (PNI), la EM no constituye un problema de salud actualmente, muestra cifras endémicas (0,3/100 00 habitantes) y sólo se notifican casos aislados (14).

Los cambios ocurridos en el comportamiento de la EM con la aplicación de la vacuna cubana nos motivó a identificar los marcadores epidemiológicos de las cepas invasivas recibidas en el Instituto Finlay durante 20 años (1982-2002). Los resultados obtenidos, junto al análisis de los mismos profundizan en el conocimiento de la dinámica epidemiológica de las cepas circulantes en Cuba y resultan imprescindibles para el estudio integral de la EM en este país.

Materiales y métodos

Cepas de *N. meningitidis*

Entre 1982-2002, el Laboratorio de Microbiología del Instituto Finlay recibió 429 cepas de *N. meningitidis* aisladas de casos clínicos invasivos en diferentes regiones del país. Estas cepas se caracterizaron, liofilizaron y almacenaron para estudios posteriores en el Departamento de Colecciones de Cultivo del Instituto Finlay. En el momento de su recepción se identificaron en género, especie y serogrupo, según métodos convencionales (15); posteriormente se clasificaron los serotipos, subtipos e inmunotipos (16). Para su estudio las cepas se cultivaron en placas Petri de Agar Mueller Hinton (Merck), más suero fetal bovino al 5% (Hyclone), se incubaron 24-48 h a 37 °C, en atmósfera húmeda con 5% de CO₂ y posteriormente se realizó la lectura.

Clasificación serológica

N. meningitidis se clasificó en serogrupos por aglutinación en lámina portaobjetos con antisueros comerciales: A, B, C, X, Y, Z y W-135 (Difco) (15). Mientras que, para la identificación de serotipos, subtipos e inmunotipos se utilizó el ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM) (16). Para la clasificación de los sero/subtipos se empleó el panel comercial de AcM del RIVM (Instituto Nacional de Investigaciones para el Hombre y el Ambiente, de Holanda), que incluyó seis AcM de serotipos (1, 2a, 2b, 4, 14, 15) y 13 de subtipos (P1.1, P1.2, P1.4, P1.5, P1.6, P1.7, P1.9, P1.10, P1.12, P1.13, P1.14, P1.15, P1.16). Además, se utilizó el AcM P1.19 del NIBSC (Instituto Nacional para Control Biológico y Estándares, del Reino Unido); para la identificación de los inmunotipos se emplearon los AcM: L3,7,9; L8 y L10, del NIBSC. Las cepas que no mostraron reacción positiva

frente a los antisueros de serogrupos y AcM de sero/subtipos e inmunotipos se clasificaron como *N. meningitidis* no agrupable (NA), no tipable (NT), no subtipable (NST) y no inmunotipable (NIT), respectivamente.

Basándonos en el comportamiento epidemiológico de la EM durante el período comprendido entre 1982-2002 (14) las cepas de este trabajo se distribuyeron en dos etapas: epidémica y postepidémica. Las del período epidémico correspondieron a cepas aisladas entre 1982-1992 (incidencia de EM entre 12,8-1,3/100 000 hab.). Mientras que, la postepidémica incluyó aislamientos de casos invasivos ocurridos entre 1993-2002 (incidencia de EM entre 0,9-0,3/ 100 000 habitantes) (14). Para su identificación en el texto se utilizó la siguiente nomenclatura: EEE (enfermos de la etapa epidémica) y EEPE (enfermos de la etapa postepidémica). Su número y distribución por años y etapas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Distribución y número de cepas de *N. meningitidis* investigadas (1982-2002)

Etapas	No. Cepas Estudiadas
EEE (1982-1992)	279
EEPE (1993-2002)	150
Total	429

Análisis estadístico

Se calcularon proporciones, frecuencias absolutas y relativas. Además, se utilizó el test χ^2 o el test exacto de Fisher para el análisis de tablas de contingencia. Para proporciones de interés, se calcularon intervalos de confianza por el método aproximado de Wilson.

Resultados

Distribución de serogrupos: Entre las 429 cepas *N. meningitidis* investigadas prevaleció el serogrupo B (97,90%), mostrando porcentajes similares en ambas etapas: EEE (96,77%) y EEPE (100%). Mientras que el serogrupo C (1,43%) y cepas NA (1,80%), sólo se observaron en casos de EEE y con cifras muy bajas (Tabla 2).

Tabla 2. Cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos en la etapa epidémica y postepidémica, según serogrupos (1982-2002)

	EEE		EEPE		Total	
	N	%	N	%	N	%
B	270	96,77	150	100	420	97,90
C	4	1,43	0,0	0,0	4	0,94
NA	5	1,80	0,0	0,0	5	1,16
Total	279	100,0	150	100,0	429	100,0

Leyenda: EEE = Enfermos etapa epidémica

EEPE = Enfermos etapa postepidémica

NA = No agrupable

Distribución de serotipos: Predominó el serotipo 4 (86,48%), también con porcentajes similares en EEE (85,66%) y EEPE (88,0%) (Tabla 3). El serotipo 15 (7,46%) y cepas NT (6,06%) les siguieron en orden de frecuencia, aunque en EEE, estos mostraron cifras ligeramente superiores (7,89 y 6,45%), respectivamente.

Distribución de subtipos: En ambos períodos prevaleció el subtipo P1.19.15 (78,32%), con una distribución semejante en EEE (78,49%) y EEPE (78,0%). Le siguieron en orden de frecuencia las cepas NST

(7,47%); el resto de los subtipos mostraron porcentajes bajos, aunque las cepas de EEE mostraron una mayor diversidad de subtipos (Tabla 4).

Distribución de inmunotipos: La Figura 1, muestra el predominio del inmunotipo L3,7,9, con un porcentaje superior en EEPE (98,66%); L8 se detectó sólo en cepas de EEE (1,80%), grupo donde el número de aislamientos NIT fue ligeramente superior (2,86%).

Tabla 3. Cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos en la etapa epidémica y postepidémica, según serotipos

	EEE		EEPE		Total	
	No	%	No	%	No	%
NT	18	6,45	8	5,33	26	6,06
4	239	85,66	132	88,0	371	86,48
15	22	7,89	10	6,67	32	7,46
Total	279	100,00	150	100,00	429	100,00

Leyenda: EEE = Enfermos etapa epidémica; EEPE = Enfermos etapa postepidémica; NA = No agrupable; NT = No tipable

Tabla 4. Cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos en la etapa epidémica y postepidémica, según subtipos

	EEE		EEPE		Total	
	No	%	No	%	No	%
P1.19,15	219	78,49	117	78,0	336	78,32
P1.NST	17	6,10	15	10,0	32	7,47
P1.12,15	4	1,43	4	2,66	8	1,86
P1.5,2	7	2,50	4	2,66	11	2,57
P1.15	10	3,58	4	2,66	14	3,27
P1.4	1	0,36	1	0,67	2	0,46
P1.16	3	1,08	2	1,34	5	1,17
P1.5,13	1	0,36	1	0,67	2	0,46
P1.13	1	0,36	1	0,67	2	0,46
P1.12,16	1	0,36	1	0,67	2	0,46
P1.7,19	1	0,36	0	0,0	1	0,23
P1.6	1	0,36	0	0,0	1	0,23
P1.19	6	2,15	0	0,0	6	1,40
P1.7,15	4	1,43	0	0,0	4	0,93
P1.2	1	0,36	0	0,0	1	0,23
P1.5	1	0,36	0	0,0	1	0,23
P1.19,13	1	0,36	0	0,0	1	0,23
Total	279	100,00	150	100,00	429	100,00

Leyenda: EEE = Enfermos etapa postepidémica; EEPE = Enfermos etapa postepidémica; NST = No subtipable

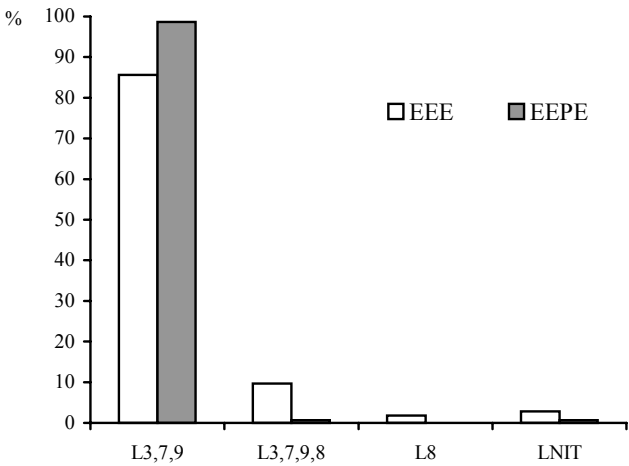


Figura 1. Cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos en la etapa epidémica y postepidémica, según inmunotipos

Leyenda: EEE = Enfermos etapa epidémica; EEPE= Enfermos etapa postepidémica; NIT = No inmunotipable

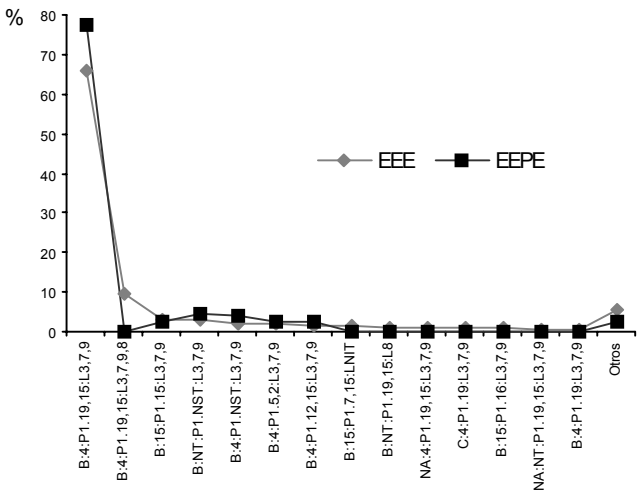


Figura 2. Distribución de cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos en la etapa epidémica y postepidémica, según fenotipos

Leyenda: EEE = Enfermos etapa epidémica; EEPE = Enfermos etapa postepidémica; NIT=No inmunotipable

Tabla 5. Fenotipos identificados en una sola cepa de *N. meningitidis*, reflejados en la Figura 2 con el término “otros”

Fenotipos EEE	Fenotipos EEPE
1) B:4:P1.4:L3,7,9	1) B:4:P1.4:L3,7,9
2) B:4:P1.5,13:L3,7,9	2) B:NT:P1.5,13:L3,7,9
3) B:15:P1.13:L3,7,9	3) B:15:P1.12,16:L3,7,9
4) B:15:P1.12,16:L3,7,9	4) B:15:P1.13:L3,7,9
5) B:15:P1.7,19:LNIT	
6) B:15:P1.6:L3,7,9	
7) C:NT:P1.15:L3,7,9	
8) B:15:P1.2:L8	
9) B:4:P1.19:LNIT	
10) B:4:P1.NST:L8	
11) B:NT:P1.15:L3,7,9	
12) B:4:P1.19:L3,7,9	
13) B:4:P1.19:L3,7,9,8	
14) B:NT:P1.5:L3,7,9	
15) B:NT:P1.19,13:L3,7,9	
Total: 15 cepas	Total: 4 cepas

Leyenda: EEE = Enfermos etapa epidémica; EEPE = Enfermos etapa postepidémica; NIT = No inmunotipable

Distribución de fenotipos: En las cepas investigadas predominó el fenotipo B:4:P1.19.15:L3.7.9 (69,69%). Al comparar ambas etapas, el 65,66% se identificó en EEE, mientras que, en cepas de EEPE (77,34%), el porcentaje fue superior ($p<0,05$). Las cepas de EEE mostraron una mayor diversidad de asociaciones fenotípicas y en el término “otros”, se incluyeron aquellos fenotipos identificados en una sola cepa (Tabla 5).

Discusión

A partir de 1805, que se conoce la EM, se describen en el mundo numerosas epidemias con diferentes grados de intensidad y permanencia. En dependencia de las condiciones que pueden constituir factores contribuyentes en el desenlace de la EM, la incidencia de casos varía desde menos de 1/100 000 hab. hasta más de 500/100 000 (1). Generalmente, las epidemias se producen por un genotipo particular de cepas, estas expresan polisacáridos de serogrupos asociados principalmente con casos invasivos y una vez que las mismas se inician se pueden prolongar durante periodos variables (pocas semanas, muchos años) y hasta dispersarse globalmente (17). La interacción de *N. meningitidis* con su hospedero es notable y varía desde una colonización asintomática de la nasofaringe (condición que afecta virtualmente a todas las poblaciones), hasta infecciones devastadoras, frecuentemente fatales (1, 2).

La caracterización de cepas de *N. meningitidis* sobre la base de los serogrupos, sero/subtipos e inmunotipos, constituye una valiosa herramienta para el análisis de brotes epidémicos, así como para evaluar la eficacia de vacunas. La identificación de estos marcadores epidemiológicos contribuye a mejorar el conocimiento de las tendencias epidemiológicas de la EM y resultan imprescindibles para el estudio integral de la misma (3,4). Más del 90% de las cepas aisladas de enfermos son capsuladas. La cápsula, compuesta por polisacáridos representa un importante factor de virulencia y sirve de base para la clasificación de *N. meningitidis* en serogrupos. De estos los más frecuentemente vinculados a infecciones sistémicas son: A, B, C, Y, W-135 (1).

En las últimas décadas, *N. meningitidis* B causó brotes epidémicos en Islandia, Noruega, Bélgica, España y Nueva Zelanda, señalándose como la causa más común de EM en el noroeste de Europa (8). Mientras que en América, además de Cuba, se declararon brotes epidémicos en Brasil, Chile, Estados Unidos, Argentina y Uruguay, entre otros (18, 19, 20, 21, 22).

Este trabajo detectó un franco predominio del serogrupo B. Resultados similares señalan otros trabajos realizados en Cuba (10, 11, 23, 24, 25, 26). El serogrupo B se observó en más del 90% de las cepas invasivas de la década del 80 y prevaleció también en cepas de portadores investigadas en ese período (11). Recientemente, una investigación del Laboratorio Nacional de Referencia de Neisserias Patógenas del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (IPK), lo señaló en el 100% de las cepas invasivas recibidas en el IPK, entre 1993-1999 (27).

El serogrupo C se observó en un número reducido de EEE, resultado que pudo estar influenciado por la campaña de inmunización masiva realizada en 1979 con la vacuna A-C (bioMérieux), en la población cubana comprendida entre los 6 meses-19 años de edad. Desde el inicio de la epidemia en Cuba y hasta la inmunización masiva con A-C prevaleció el serogrupo C (50,9%), seguido del B (34,3%). Posteriormente, se produjo el franco ascenso y predominio del B, convirtiéndose la EM en el principal problema de salud de Cuba durante toda la década del 80 (10,11). Debido a la situación epidémica existente y no disponer en ese momento de ningún preparado vacunal contra *N. meningitidis* B, se desarrolló y obtuvo la vacuna antimeningocócica cubana (VA-MENGOC-BC®), la cual, luego de su evaluación, aplicación e incorporación al PNI, controló la epidemia de Cuba (11, 12, 13). Estudios posteriores evidenciaron el descenso mantenido de la EM (incluidos los niños menores de 1 año), por el efecto de la inmunización con VA-MENGOC-BC®, en contraposición con países en que solo realizaron campañas puntuales de vacunación y por consiguiente, posteriormente observaron un incremento de casos ocasionados por el mismo agente (28).

Aunque en nuestra investigación el número de cepas pertenecientes al serogrupo C fue bajo y éste no se detecta en Cuba desde hace algunos años, *N. meningitidis* C constituye un importante agente causal de EM en diversas regiones del mundo; actualmente, cepas de *N. meningitidis* B y C representan el 95% de los casos invasivos de Europa (8).

Durante la epidemia de Cuba otros países notificaron el ascenso de casos con EM. En Europa, esta entidad clínica se vinculó estrechamente con el serogrupo B y países como Noruega, Francia y

España (17, 29, 30), por citar algunos, mostraron su prevalencia, aunque al inicio de la década del 90, España notificó el ascenso del serogrupo C (31). En América Latina: Brasil, Chile, Argentina, Colombia y Estados Unidos mostraron cambios epidemiológicos importantes. Brasil, que sufrió una de las epidemias más severas del mundo causada por los serogrupos A y C, a partir de 1986, el 80% de los procesos invasivos fueron producidos por *N. meningitidis* B (18); posteriormente, Chile, Argentina, Colombia y Estados Unidos notificaron también su ascenso (19, 21, 32, 33).

En este trabajo no se observaron otros serogrupos descritos frecuentemente en casos esporádicos y epidemias. Sin embargo, los serogrupos A y W-135, se destacan principalmente en África y Asia (1). *N. meningitidis* A, responsable de epidemias y pandemias, es el agente etiológico más importante de EM en África, sobre todo, en los países que integran el denominado “cinturón de la meningitis”, región donde el serogrupo A ocasiona epidemias explosivas y periódicas (6). Sin embargo, actualmente es poco frecuente en Europa y Norteamérica (8). El serogrupo A no se notifica en Cuba desde hace varios años, al inicio de la epidemia se aisló en un número reducido de casos (11). En este momento el serogrupo W-135 se describe como agente etiológico de EM entre peregrinos musulmanes y sus contactos, sobre todo, después de la visita anual a La Meca, Arabia Saudita. El número de enfermos con *N. meningitidis* W-135, ascendió en Europa y desde los brotes ocurridos en los últimos años, su incidencia se vigila estrechamente (1,7). El serogrupo W-135 tampoco se observó entre las cepas invasivas de Cuba, aunque se ha identificado en un porcentaje reducido de portadores (11). El serogrupo Y, tampoco observado entre las cepas de nuestro trabajo, se convirtió a partir de la década del 90, en uno de los agentes causales más frecuentes de EM en Estados Unidos (9).

El desarrollo y obtención de AcM dirigidos contra las PME de *N. meningitidis* (PorA, PorB) y LOS, permiten estudios de serotipificación e inmunotipificación, respectivamente, lo que contribuye a mejorar el conocimiento de las tendencias epidemiológicas de la EM (3,4). Nuestro trabajo detectó similitud entre los sero/subtipos observados en EEE y EEPE. Después de 1979, el fenotipo B:4:P1.19,15, resultó el de mayor circulación en Cuba (11,12,13,24,25,26,27). Sin embargo, países como Noruega y Nueva Zelanda, entre otros, señalan otros fenotipos como más frecuentes (8, 17, 34). Desde 1991, Nueva Zelanda notificó el ascenso de casos clínicos invasivos producidos por cepas B:4:P1.7b,4. Al serotipo 4 correspondió el 73% de las cepas identificadas entre 1989-99 y actualmente, evalúan una vacuna obtenida a partir de la cepa prevalente en el país (B:4:P1.7b,4) (34). Mientras que, al inicio de la década del 70, Noruega señaló al fenotipo B:15:P1.7,16, como el principal agente etiológico de su epidemia. Al igual que en Cuba, desarrollaron y obtuvieron una vacuna a partir de la cepa prevalente (B:15:P1.7,16). La vacuna se administró entre 1989 y 1991 en escolares de 14 a 16 años, estimándose la efectividad en el 57,2%. Las investigaciones con la vacuna aún continúan y se recomienda para la inmunización de adultos con riesgo ocupacional (35).

Al comparar los sero/subtipos detectados en este trabajo con asociaciones fenotípicas descritas en otras regiones de América

Latina, constatamos que a partir de 1982 la incidencia de EM resultó crítica en Chile, a expensas del fenotipo B:15:P1.3 (19). También en Argentina, Uruguay Brasil y Colombia, notificaron el ascenso de casos invasivos producidos por el serogrupo B (21, 22, 28, 32). En Argentina fue frecuente el fenotipo B:2b:P1.10; Uruguay mostró un número considerable de casos ocasionados por cepas B:2b:P1.10. Sin embargo, en el 2001 la situación se tornó diferente y surgieron brotes en Canelones y Montevideo, los que tuvieron como agente etiológico principal al fenotipo B:4:P1.19,15, seguido por cepas B:4:P1.16 y B:4:P1.7, situación que se controló satisfactoriamente con la aplicación de VA-MENGOC-BC® (22). Coincidiendo con los datos de Cuba, Colombia señaló como prevalente al fenotipo B:4:P1.15 (32) y Brasil enfrentó desde 1988, brotes por este fenotipo (28). También en Oregón, Estados Unidos, la EM alcanzó cifras elevadas entre 1992-1994, el 86% pertenecieron al complejo clonal ET-5, con los serotipos 4 y 15, el subtipo P1.7,16 y el inmunotipo L3,7,9,8,10, como los más frecuentes (33). El 69% de un grupo de cepas aisladas durante la epidemia de Cuba pertenecieron al complejo clonal ET-5, este predominio, pudiera explicar la severidad de nuestra epidemia (36).

En las cepas de EEPE, predominó *N. meningitidis* B y no se identificó al serogrupo C. Estudios de portadores realizados recientemente en Cuba, en dos instituciones infantiles, mostraron la ausencia de los serogrupos B y C (37,38), hallazgo que pudiera estar relacionado con el efecto producido por la inmunización sistemática y mantenida con VA-MENGOC-BC®.

Al comparar los resultados de EEPE, con algunos trabajos de caracterización fenotípica en cepas de América Latina, vemos que brotes ocurridos recientemente en Ecuador señalan como más frecuentes a los serogrupos C y W-135 (39). Mientras que, entre 1996-1997, España mostró una situación epidemiológica interesante. El serogrupo C, que integraba menos del 2% antes de 1994, ascendió al 70% y la decisión de inmunizar con A-C en las Comunidades Autónomas, originó que en el 2002 la cepa de la onda epidémica (C:2b:P1.5,2), descendiera al 21,8%. Sin embargo, en el 2001 surgió el fenotipo B:2a:P1.5; esta situación hizo pensar en un cambio capsular “switching”, suceso que puede ocurrir después de aplicar programas de vacunación que provocan protección serogrupo específica. Las nuevas cepas parecen mantener el potencial epidémico de las precursoras y se convierten en un importante factor de virulencia (31). En Cantabria, tras la vacunación contra el serogrupo C, se consiguió su eliminación, sin embargo, paralelamente se incrementó el serogrupo B. A esta situación parece haber contribuido la difusión por el País Vasco y Cantabria, a partir del 2001, de la cepa B:2a:P1.5, procedente de este “switching” o recombinación capsular entre el serogrupo B y C (40). Otros países como Francia, Inglaterra, Gales, Escocia e Irlanda del Norte, observaron el incremento de casos invasivos por *N. meningitidis* C (8). En 1999, el Reino Unido aplicó en menores de 18 años, la vacuna conjugada contra el serogrupo C. Posteriormente, comprobó una reducción del 66% de portadores de este serogrupo C entre la población inmunizada (41). Italia, corroboró entre 1999-2001, el predominio de los serogrupos B (75%) y C (24%) (45), pero en la etapa del 2002-2003, este último se elevó al 42,5%, señalando la

transferencia horizontal de los genes (siaD), implicados en el “switching” capsular (42).

El número de cepas investigadas en EEPE fue inferior al de EEE, situación relacionada con la reducción de casos invasivos y el control de la epidemia de Cuba. La amplia cobertura nacional alcanzada, junto a la aplicación sistemática y mantenida de VA-MENGOC-BC®, redujo el número de casos; actualmente sólo se notifican casos aislados (0.3/100 000 habitantes) (13, 14).

Nuestro trabajo detectó similitud entre los sero/subtipos de EEE y EEPE. Después de la inmunización con la vacuna A-C, el fenotipo B:4:P1.19,15, resultó el de mayor circulación en Cuba (11). La ausencia de nuevos serogrupos y sero/subtipos epidemiológicos entre EEPE, junto a los resultados señalados en estudios de portadores, hablan a favor del impacto y efectividad de VA-MENGOC-BC®, y particularmente de su amplio espectro contra diferentes sero/subtipos del serogrupo B (12, 21, 43).

La pobre inmunogenicidad del PC del serogrupo B hace que la estrategia de protección contra la EM se dirija a la obtención de vacunas compuestas por antígenos no capsulares, de ahí la importancia de caracterizar las PME. Las vacunas compuestas por estos antígenos, inducen la formación de anticuerpos protectores y han demostrado su efectividad en ensayos clínicos (12), y VA-MENGOC-BC® constituye un ejemplo de este tipo de preparado vacunal. Su aplicación ha controlado también brotes epidémicos de otros países (22,32).

Actualmente, la estructura química de la mayoría de los inmunotipos de *N. meningitidis* ha sido esclarecida. Su heterogeneidad se observa frecuentemente, señalándose que puede estar vinculada con las diferentes condiciones de crecimiento de este microorganismo (44). Algunos estudios revelan que L3,7,9, se asocia con aproximadamente el 80% de las cepas invasivas, mientras que L8, se vincula más frecuente con los portadores (45). Se señala también que L8 es más sensible a la actividad bactericida del suero (44).

A pesar de los avances alcanzados en el desarrollo de los antimicrobianos y nuevas vacunas contra *N. meningitidis*, la EM es aún un problema de salud para varias regiones del mundo. Si bien actualmente se conocen muchos aspectos sobre las características de las cepas circulantes, se plantean todavía interrogantes. Sin dudas, deben existir factores dependientes del huésped, cepas y condiciones ambientales, responsables del comportamiento diferente que presenta la EM. El desarrollo de técnicas moleculares como el “Multilocus Sequence Typing” (MLST), junto con la clasificación antigénica clásica, han permitido la asignación de diferentes aislamientos a determinadas líneas evolutivas o clusters poblacionales y algunas de ellas se han identificado como líneas hipervirulentas (45). Recientemente, 131 cepas invasivas de Cuba, aisladas entre 1983-2003, se caracterizaron genéticamente por MLST. La mayoría, perteneció a la secuencia tipo 33 (ST-33), una subvariante del complejo clonal ST-32, agente causal de EM endémica y epidémica desde la década del 70 en diversas regiones (46).

Existen aún problemas en el mundo acerca del conocimiento, diagnóstico, prevención, control y tratamiento de la EM. Entre éstos

se encuentran: la sensibilidad que tienen algunas poblaciones a enfermar, su naturaleza epidémica esporádica, los mecanismos responsables de la erradicación del portador, las razones para la naturaleza fulminante de la EM y los problemas relacionados con la capacidad de las vacunas disponibles para el control de brotes y epidemias. Hasta que se respondan éstas y muchas otras interrogantes, la EM constituirá un flagelo entre las poblaciones humanas. La realización de estudios que analicen paralelamente las cepas aisladas de enfermos y portadores, así como, la investigación de la virulencia de las cepas epidémicas, constituirán en el futuro, herramientas básicas para comprender mejor la epidemiología de la EM y poner en marcha medidas útiles para su control. La incorporación de nuevos métodos de caracterización, ofrecerá una mayor información sobre la genética y relación biológica existente entre las poblaciones de *N. meningitidis*. La vigilancia y caracterización sistemática de las cepas invasivas son esenciales para monitorear este microorganismo y permitirá detectar la emergencia de nuevas cepas.

Referencias

- Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS, Popovic T, Hughes JM. Meningococcal disease. *N Engl J Med* 2001;344:1378-88.
- Yazdankhah SP, Caugant DA. *Neisseria meningitidis*: an overview of the carriage state. *J Med Microbiol* 2004;53:821-32.
- Pichichero ME. Meningococcal conjugate vaccines. *Expert Opin Biol Ther*. 2005;5: 1475-89.
- Frasch CE, Zollinger WD, Poolman JT. Serotypes antigens of *Neisseria meningitidis* and a proposed scheme for designation of serotypes. *Rev Infect Dis* 1985;7:504.
- Maiden M, Bygraves JA, Fell E, Morell G, Russell JE, Urwin R et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3140-5.
- Robbins JB, Schneerson R, Gotschlich EC, Mohammed I, Nasidi A, Chippaux JP et al. Meningococcal meningitis in sub-Saharan Africa: the case for mass and routine vaccination with available polysaccharide vaccines. *Bull World Health Organ* 2003;81:745-50.
- Forgor AA, Leimkugel J, Hodgson A, Bugri A, Dangy GP, Gagneux S et al. Emergence of W-135 meningococcal meningitis in Ghana. *Trop Med Int Health* 2005;10:1229-34.
- EU-MenNet. Impact of meningococcal epidemiology and population biology on public health in Europe. Final Report. 2001-2005.
- Racoosin JA, Whitney CG, Conover CS, Díaz PS. Serogroup Y meningococci disease in Chicago, 1991-1997. *JAMA* 1998;280:2094-98.
- Terry Molinert, Demina AA; Valcarcel Novo M. Epidemiological characteristics of meningococcal infection in Cuba. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 1986;2:54-9.2.
- Valcárcel NM, Rodríguez CR, Molinert HT. La enfermedad meningocócica en Cuba. Cronología de una epidemia. 1st ed. Ciencia Médicas, Ciudad Habana, Cuba;1991.
- Sierra GV, Campa HC, Valcárcel NM, García IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. *NIPH Ann* 1991;14:195-07.
- Pérez Rodríguez A, Dickinson F, Baly A, Martínez R. The epideml impact of antimeningococcal vaccination in Cuba. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999; 94:433-40.
- Estadísticas de Salud de Cuba. Anuario Estadístico de Salud 2004. Incidencia y mortalidad por enfermedad meningocócica.1980-2004. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/anuario/tablas/ANUARIOCU1.1-1262.htm>
- Knapp JS, Koumans EH. Neisseria and Branhamella. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. ASM Press, Washington D.C, 1999; p. 586-603.
- Abdillahi H, Poolman JT. Whole cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. *FEMS Microbiol Letters* 1987;48:367-71.
- Caugant DA, Froholm LO, Bovre K, Holten E, Frøsch CE, Mocca LF et al. Intercontinental spread of a genetically distinctive complex of clones of *Neisseria meningitidis* causing epidemic disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:4927-31.
- Sacchi CT, Pessoa LL, Ramos SR, Milagres LG, Camargo MCC, Hidalgo NTR et al. Ongoing group B *Neisseria meningitidis* epidemic in São Paulo, Brazil, due to increased prevalence of a single clone of the ET-5 complex. *J Clin Microbiol* 1992;30:1734-8.
- Castillo L, Maldonado A, García J, Silva W, Ulloa MT, Valenzuela MT et al. Caracterización de *Neisseria meningitidis* aisladas de infecciones sistémicas. Chile 1992-1993. *Rev Med Chile* 1994;122:760-67.
- Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS, Lefkowitz L, Cartter ML, Danila R et al. The changing epidemiology of meningococcal disease in the United States, 1992-1996. *J Infect Dis*. 1999;180:1894-901.
- Requeira M, Palmeiro S, Gutiérrez M, Malberty A, Sotolongo F, García AM. Estudio de cepas de *Neisseria meningitidis* circulantes en la Argentina 1991-1993 y ensayo de sueros de vacunados con una vacuna antimeningocócica de origen cubano contra cepas de los diferentes serotipos y subtipos causantes de enfermedad. *Rev Hosp Niños Buenos Aires* 1994; XXXVI (158/159):242-46.
- Pérez GM, Picón MT, Galazka CT, Quian RJ, Gutiérrez RS, Ferrari CA et al. Enfermedad invasiva meningocócica en Uruguay. Informe epidemiológico y recomendaciones, mayo 2002. *Rev Med Uruguay* 2002;18:83-8.
- Martínez I, Patton AS, Sotolongo F, Llop A, Sosa J. Caracterización de cepas de *Neisseria meningitidis* grupo B. *ACTA CIENTIFICA SVBE* 1994;3:4-37.
- Gutiérrez VM, Caro AE, Martínez MI, Nuñez N, Sotolongo PF, Ginebra M. Epidemiological markers of epidemic strains of *Neisseria meningitidis* isolated in Cuba. In: *Proceeding of the 13th International Pathogenic Neisseria Conference*. Oslo, Norway, 2002:348.
- Alea GV, Martínez MI, Sotolongo PF, Nuñez N, Gutiérrez VM, Zamora ML, et al. Phenotypes of *Neisseria meningitidis* strains isolated in Cuba. In: *Proceeding of the 13th International Pathogenic Neisseria Conference*. Oslo, Norway, 2002:328.
- Gálguera M, Gutiérrez M, Caro E, Rodríguez L, Sotolongo F, Sierra G et al. Studies of serogroup B strains of *Neisseria meningitidis*: main causal agent of the meningococcal disease in Cuba after 1980. In: *Conde Glez CJ, Morse SP. Rice, F. Sparling, Calderón E. Pathobiology and Immunology of Neisseriaceae. International Pathogenic Neisseria Conference*. Cuernavaca, México, 1994:222-225.

27. Sosa J, Llanes R, Guzmán D, Quintana I, Flores M, Gutierrez O. Typing and susceptibility to penicillin of *Neisseria meningitidis* isolated from patients in Cuba (1993-1999). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:523-25.
28. Sacchi CT, de Lemos AP, Camargo MC, Whitney AM, Melles CE, Solari CA. Meningococcal disease caused by *Neisseria meningitidis* serogroup B serotype 4 in Sao Paulo, Brazil, 1990 to 1996. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1998;40:65-70.
29. Vazquez JA, Marcos C, Berron S. Sero/subtyping of *Neisseria meningitidis* isolated from patients in Spain. *Epidemiol Infect* 1994;113:267-74.
30. Riou JY, Poolman JT, Auriol J, Lompres F, Guibourdenche M. Sero-subtyping of group B, C Y and A meningococci isolated in France 1988. *Ann Biol Clin* 1990;48:227-32.
31. Alcala B, Salcedo C, Arreaza L, Berron S, de la Fuente L, Vázquez JA. The epidemic wave of meningococcal disease in Spain in 1996-1997: probably a consequence of strain displacement. *J Med Microbiol* 2002;51:1102-6.
32. Echeverry ML, Malberty JA, Galeano ML, Sotolongo PF, Galguera MA, Montoya BC et al. Respuesta inmune humoral al polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo C en un ensayo de vacunación antimeningocócica BC en Antioquia, Colombia. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995;118 :295-01.
33. Diermayer M, Hedberg K, Hoesly FC, Fischer M, Perkins B, Reeves M et al. Epidemic serogroup B meningococcal disease in Oregon: the evolving epidemiology of the ET-5 strain. *JAMA* 1999;281:1493-7.
34. Martín DR, Walker SJ, Baker MG, Lennon D. New Zealand epidemic of meningococcal disease identified by a strain with phenotype B4:P1.4. *J Infect Dis* 1998;177:257-9.
35. Fischer M, Carlone GM, Holst J, Williams D, Stephens DS, Perkins BA. *Neisseria meningitidis* serogroup B outer membrane vesicle vaccine in adults with occupational risk for meningococcal disease. *Vaccine* 1999;17:2377-83.
36. Caro E, Martínez I, Gutiérrez M, Núñez N, Sotolongo F, Bravo J et al. Marcadores epidemiológicos de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas en Cuba durante el período 1985-1992. *VacciMonitor* 2000; 9(1):5-11.
37. Martínez I, López O, Sotolongo F, Mirabal M, Bencomo A. Portadores de *Neisseria meningitidis* en niños de una escuela primaria. *Rev Cub Med Tropical* 2003;55:162-8.
38. Martínez I, Álvarez N, Sotolongo F, Izquierdo L, Núñez N. Portadores de *Neisseria meningitidis* en un círculo infantil de Ciudad de La Habana. *Reseñas en Quimioterapia Latinoamericana* 2003;11:93-99.
39. Pesantes C. Meningococo y enfermedad meningocócica: Revisión a propósito de los brotes epidémicos en Guayaquil-Ecuador. XVI Congreso Latinoamericano de Microbiología, La Habana, Cuba 2002.
40. González de Aledo, Vilorio L. Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana. *Gac Sanit* 2004;18:45-9.
41. Maiden MC, Stuart JM. Carriage of serogroup C meningococci 1 year after meningococci C conjugate polysaccharide vaccination. *Lancet* 2002;359:289-91.
42. Stefanelli P, Fazio C, Neri A, Sofia T, Mastrantonio P. First report of capsule replacement among electrophoretic type 37 *Neisseria meningitidis* strains in Italy. *J Clin Microbiol* 2003;41: 5783-86.
43. Morley SL, Cole MJ, Ison CA, Camaraza MA, Sotolongo F, Anwar N et al. Immunogenicity of a serogroup vaccine against multiple *Neisseria meningitidis* strains in infants. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:1054-61.
44. Brandtzaeg P, Bjerre A, Øvstebø R, Brusletto B, Joø G, Kierulf P. *Neisseria meningitidis* lipopolysaccharides in human pathology. *J Endotoxin Res.* 2001;7:401-20.
45. Jones DM, Borrow R, Fox AJ, Gray S, Cartwright KA, Poolman JT. The lipooligosaccharide immunotype as a virulence determinant in *Neisseria meningitidis*. *Microb Pathog* 1992;13:219-24.
46. Maiden M, Bygraves JA, Fell E, Morell G, Russell JE, Urwin R et al. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3140-5.46.
47. Climent Y, Pajon R, Maiden MCJ, Sotolongo F, Martínez I, Urwin R. Genetic and antigenic diversity among disease causing meningococci isolated before and after mass immunisation in Cuba. In: Meningitis and septicaemia in children and adults: Burden of illness, management and prospects for prevention. Proceedings of the Meetings 23-24 November 2005, Royal Society of Medicine, London, UK, organized by Meningitis Research Foundation; 2005::53.

Phenotypic characterization of invasive strains of *Neisseria meningitidis* isolated in Cuba during 20 years

Abstract

The epidemiological markers (sero-groups, sero-types, sub-types, immuno-types) of 429 invasive strains isolated in Cuba during 20 years (1982-2002) were investigated. Based on the behavior of the Meningococcal Disease (MD) incidence in the investigated period, the strains were distributed in two stages: epidemic and post-epidemic. The epidemic stage involved 279 strains isolated between 1982 and 1992 and the post-epidemic one included 150 isolations carried out between 1993 and 2002. All of them were seeded in Mueller Hinton Agar with fetal bovine serum (5%) and incubated for 24-48 hours, 37 °C, in humid atmosphere with 5% of CO₂. The identification of sex, species and sero-group was performed using conventional methods; characterization of sero/sub-types and immuno-types was carried out using the immuno-enzymatic test (ELISA) of whole cells with monoclonal antibodies. Serogroup B (97,90%) prevailed in both stages: epidemic (96.77%) and post-epidemic (100%). However, sero-group C (1.43%) and non-grouping strains (1,8%) were only observed in the isolations of the epidemic stage. The other prevailing markers were: serotype 4 (86.48%), subtype P1.19,15 (78.32%), immuno-type L3,7,9 (90.2%) which showed similar figures in both periods. Phenotype B:4:P1.19,15: L3,7,9 (69,69%) prevailed, although, in the post-epidemic stage (77.34%), the percentage was higher than that of the epidemic one (65.66%) (p<0.05). A higher diversity of phenotypic associations was also observed in the strains of this period. Results obtained from this phenotypic characterization of *Neisseria meningitidis* strains isolated from ill persons provide valuable data to the study, prevention and successful control of the MD in Cuba.

Keywords: *Neisseria meningitidis*, meningococcal disease, ill persons, epidemiological markers, phenotypes, meningococcal vaccine

INSTITUTO FINLAY

Caracterización de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores en Cuba durante 20 años

Dra. Isabel Martínez Motas,¹ Dr. Gustavo Sierra González,² Lic. Niury Núñez Gutiérrez,³ Lic. Luis Izquierdo Pérez,⁴ Lic. Yanet Climent Ruíz,⁵ y Lic. Mayelin Mirabal Sosa⁶

RESUMEN

Se investigaron los marcadores epidemiológicos de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores en Cuba durante 20 años (1982-2002). Se identificaron los serogrupos, serotipos, subtipos e inmunotipos de 331 cepas correspondientes a 2 etapas diferentes: epidémica (1982-1992) y posepidémica (1993-2002). En la epidémica predominó el serogrupo B (67,62 %) y las cepas no agrupables (32,28 %). En la posepidémica prevalecieron las cepas no agrupables (79,65 %) y el serogrupo B (17,26 %) ($p < 0,05$). El presente estudio es el primero y único hasta el momento, en investigar cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores antes y después de una campaña nacional masiva de inmunización con VA-MENGOC-BC® (vacuna antimeningocócica cubana contra los serogrupos B y C). Los resultados obtenidos aportan datos valiosos al estudio, prevención y control exitoso de la enfermedad meningocócica en Cuba, así como al desarrollo y la evaluación de esta vacuna.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*, enfermedad meningocócica, portadores asintomáticos, marcadores epidemiológicos, fenotipos, vacuna antimeningocócica

Neisseria meningitidis, patógeno exclusivo del hombre y agente etiológico de la enfermedad meningocócica (EM), es un comensal común de la nasofaringe humana. Su permanencia a ese nivel ocasiona el estado de portador asintomático, condición que suele estar presente entre 5 y 40 % de los individuos sanos.¹ La interacción de *N. meningitidis* con su hospedero es notable y varía desde una colonización asintomática de la nasofaringe (condición que afecta virtualmente a todas las poblaciones), hasta las infecciones frecuentemente fatales.² A pesar de los avances alcanzados en el diagnóstico y tratamiento de la EM, su morbilidad y mortalidad son elevadas y un

número significativo de sobrevivientes sufren secuelas invalidantes.^{1,2} La EM se presenta de forma endémica, hiperendémica, como brotes localizados, epidemias o pandemias, o ambas. Su severidad y tendencia por afectar principalmente a los niños y adultos jóvenes, concentra las investigaciones en aspectos concernientes a los procesos invasivos. Por consiguiente, los estudios referentes a la colonización e identificación de cepas de portadores, son comparativamente menos frecuentes y conllevan a una menor representación de estos aislamientos en aquellos centros que almacenan colecciones de cultivo de *N. meningitidis*, situación que deviene en un obstáculo,

¹ Doctora en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigadora Titular.

² Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Inmunología. Académico Titular.

³ Máster en Ciencias Bacteriología-Micología. Licenciada en Bioquímica.

⁴ Licenciado en Matemática. Investigador Agregado.

⁵ Licenciada en Biología. Aspirante a Investigadora.

⁶ Licenciada en Matemática.

cuando se requiere de una mejor comprensión e interpretación de la epidemiología de este microorganismo.³

Desde la década de los sesenta existen vacunas disponibles de polisacáridos capsulares (PC) contra los serogrupos A, C, Y, W-135, y recientemente, las técnicas de conjugación empleadas en *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae*, se aplican en la obtención de vacunas contra *N. meningitidis*.⁴ Sin embargo, la pobre inmunogenicidad del PC del serogrupo B y su reactividad cruzada con las glicoproteínas presentes en el tejido neural humano, condujo a la obtención de inmunógenos a partir de proteínas de la membrana externa (PME) (Frasch CE. Meningococcal vaccines: past, present and future. Meningococcal disease. ed. Keit Cartwright 1995, John Wiley & Sons Ltd. p. 245-83).^{4,5} En estos momentos, la disponibilidad de vacunas contra 5 de los 13 serogrupos descritos hasta la fecha, hace de la identificación de los antígenos superficiales de *N. meningitidis* una herramienta valiosa en el monitoreo de la EM (Frasch CE. Meningococcal vaccines: past, present and future. Meningococcal disease. ed. Keit Cartwright 1995, John Wiley & Sons Ltd. p. 245-83).^{4,5} La caracterización serológica incluye: serogrupos, serotipos, subtipos e inmunotipos y se basa en esquemas elaborados a partir de las diferencias estructurales y antigénicas de los componentes superficiales de *N. meningitidis*.^{6,7} Cada estructura permite definir un marcador epidemiológico diferente y así el PC determina al serogrupo; las PME de clase 2/3 (PorB) y clase 1 (PorA), los serotipos y subtipos, respectivamente; mientras que, las diferencias en sus lipooligosacáridos (LOS), clasifican los inmunotipos.⁷ Este esquema, útil para la identificación de fenotipos virulentos, mejora los estudios de prevalencia de *N. meningitidis* en poblaciones con alta incidencia de EM y es el más extendido y completo sistema de clasificación basado en estructuras moleculares que tienen interés en la respuesta inmune. A pesar de disponer de estos métodos, algunas cepas quedan sin clasificar, particularmente las de portadores. La clasificación serológica puede fallar por la alta diversidad de PorA y PoR, las limitaciones en el panel de AcM disponibles y la fuerte selección, supuestamente impuesta por la respuesta inmune

del huésped y la posibilidad de intercambio de ADN por transformación en esta bacteria.^{6,7} El advenimiento de las técnicas moleculares incrementa la información que brinda la caracterización fenotípica, sobre todo, cuando se requiere verificar la identidad genética de cepas aisladas en brotes y epidemias.⁸

Hasta 1976, la EM en Cuba mostró un comportamiento endémico; a partir de esa fecha, ascendió a expensas de casos producidos por los serogrupos C (50,9 %) y B (34,3 %). En 1979, la situación epidémica existente (incidencia de 5,6/100 000 habitantes), motivó la inmunización con A-C en toda la población menor de 20 años. Posteriormente, *N. meningitidis* B se elevó vertiginosamente, mostró su máxima incidencia en 1983 (14,3/100 000 habitantes) y se convirtió en el principal problema de salud de la década de los ochenta.^{5,9} Por no existir en ese momento una vacuna contra el serogrupo B, comenzaron las investigaciones que permitieron posteriormente obtener la vacuna VA-MENGOC-BC®, constituida por un complejo de vesículas purificadas de la membrana externa de *N. meningitidis* B y PC purificado del serogrupo C, adsorbido en gel de hidróxido de aluminio.⁵ La vacuna se aplicó en forma de campaña (1987-1990), en individuos de 3 meses-24 años y se incorporó en 1991 al Programa Nacional de Inmunización (PNI). VA-MENGOC-BC® mostró una eficacia entre 83 y 98 % y logró controlar la epidemia.^{5,9,10} En 2004, la incidencia de EM fue de 0,3/100 000 habitantes.¹¹

Por disponer de una colección de cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores en etapas con una conducta epidemiológica diferente, comparar los cambios fenotípicos ocurridos en cepas obtenidas entre 1982-2002, aportó una valiosa información sobre la dinámica de la EM en Cuba y al mismo tiempo, se pudo comprobar el impacto de la inmunización con VA-MENGOC-BC®, entre las cepas investigadas.

MÉTODOS

Cepas de N. meningitidis investigadas

Entre 1982-2002, el Laboratorio de Microbiología del Instituto Finlay, recibió 331 cepas

de *N. meningitidis* aisladas de portadores en diferentes regiones del país. Estas cepas se caracterizaron, liofilizaron y almacenaron para estudios posteriores. En el momento de su recepción se identificaron en género, especie y serogrupo, según métodos convencionales;¹² posteriormente, se determinaron los serotipos, subtipos e inmunotipos. Para su estudio, las cepas se cultivaron en placas Petri de Agar Mueller Hinton (Merck) más suero fetal bovino 5 % (Hyclone), se incubaron en atmósfera húmeda durante 24-48 h, a una temperatura de 37 °C y la presencia de 5 % de CO₂; posteriormente, se realizó la lectura.

Caracterización fenotípica

El seroagrupamiento se hizo por aglutinación en lámina portaobjetos con antisueros comerciales de *N. meningitidis* A, B, C, X, Y, Z y W-135 (Difco).¹² Mientras que, para la caracterización de serotipos, subtipos e inmunotipos, se utilizó el ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM).¹³ En la identificación de serotipos/subtipos se empleó el panel de AcM del RIVM (siglas en inglés del Instituto Nacional de Investigaciones para el Hombre y el Ambiente de Holanda), que incluyó 6 AcM de serotipos (1, 2a, 2b, 4, 14, 15) y 13 de subtipos (P1.1, P1.2, P1.4, P1.5, P1.6, P1.7, P1.9, P1.10, P1.12, P1.13, P1.14, P1.15, y P1.16). Además, se utilizó el AcM P1.19 del NIBSC (siglas en inglés del Instituto Nacional para Control Biológico y Estándares del Reino Unido); en la detección de inmunotipos, se emplearon los AcM: L3,7,9; L8 y L10 (NIBSC). Las cepas que no reaccionaron de forma positiva frente a los antisueros de serogrupo y AcM de serotipos, subtipos e inmunotipos, se clasificaron como NA, NT, NST y no inmunotipable (NIT), respectivamente.

Con el objetivo de comparar los cambios fenotípicos de las cepas estudiadas y sobre la base del comportamiento epidemiológico de la EM en el período 1982-2002, estas se distribuyeron en 2 etapas (epidémica y posepidémica). Para su distribución, se tomó en cuenta la incidencia de EM en los años analizados.¹¹ Las cepas de la etapa epidémica se aislaron entre 1982-1992 (incidencia 12,8-1,3/100 000 habitantes). Mientras que, en la

posepidémica, se incluyeron aislamientos del período comprendido entre 1993-2002 (incidencia 0,9-0,3/100 000 habitantes).¹¹ Para su identificación en el texto, se utilizó la nomenclatura siguiente: PEE (portadores de la etapa epidémica) y PEPE (portadores de la etapa posepidémica). Su número y distribución por años y etapas, se muestra en la tabla 1.

TABLA 1. Distribución y número de cepas de *N. meningitidis* investigadas (1982-2002)

Etapas	No. cepas estudiadas
PEE (1982-1992)	105
PEPE (1993-2002)	226
Total	331

PEE: portadores etapa epidémica, PEPE: portadores etapa posepidémica.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon proporciones, frecuencias absolutas y relativas. Además, se utilizó el test de chi cuadrado o el test exacto de Fisher para el análisis de tablas de contingencia. Para proporciones de interés, se calcularon los intervalos de confianza por el método aproximado de Wilson. Se consideró significativo cuando se obtuvo un resultado con un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

DISTRIBUCIÓN DE SEROGRUPOS

Entre las 331 cepas de *N. meningitidis* investigadas, 110 (33,23 %) pertenecieron al serogrupo B y 214 (64,65 %) resultaron NA. Otros serogrupos se identificaron con porcentajes bajos: W-135 (1,52 %), Y (0,30 %) y Z (0,30 %) (tabla 2). Al analizar la distribución de los serogrupos en PEE y PEPE, se observó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$), al comparar los resultados del serogrupo B y cepas NA. El serogrupo B prevaleció en PEE (67,62 %) y descendió en PEPE (17,26 %). Sin embargo, en PEPE predominaron las NA (79,65 %), cepas que en PEE resultaron significativamente inferiores (32,38 %). Los serogrupos W-135 (2,21 %), Y (0,44 %) y Z (0,44 %), solo se identificaron en PEPE.

TABLA 2. Distribución de cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores en la etapa epidémica y posepidémica, según serogrupos. Cuba, 1982-2002

Serogrupos	PEE		PEPE		Total	
	N	%	N	%	N	%
B*	71	67,62	39	17,26	110	33,23
NA*	34	32,38	180	79,65	214	64,65
W-135	0	0,0	5	2,21	5	1,52
Y	0	0,0	1	0,44	1	0,30
Z	0	0,0	1	0,44	1	0,30
Total	105	100	226	100	331	100

* $p < 0,05$ entre cepas PEE y PEPE

PEE: portadores etapa epidémica, PEPE: portadores etapa posepidémica, NA: no agrupable.

DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS

Predominaron las cepas NT (55,59 %), seguidas de los serotipos 4 (30,82 %) y 15 (10,57 %); el resto mostró porcentajes bajos: 14 (2,12 %), 1 (0,60 %) y 2b (0,30 %) (tabla 3). El serotipo 4 prevaleció en PEE (70,48 %) y descendió en PEPE (12,39 %) ($p < 0,05$). Se observaron también cambios en las cepas NT. El porcentaje de aislamientos NT de PEPE (70,80 %), sobrepasó la cifra identificada en PEE (22,86 %) ($p < 0,05$) y el serotipo 15, mostró diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados de ambas etapas: PEE (4,76 %) y PEPE (13,27 %).

TABLA 3. Distribución de cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores en la etapa epidémica y posepidémica, según serotipos. Cuba, 1982-2002

Serotipos	PEE		PEPE		Total	
	N	%	N	%	N	%
NT*	24	22,86	160	70,80	184	55,59
1	1	0,95	1	0,44	2	0,60
4	74	70,48	28	12,39	102	30,82
2b	1	0,95	0	0,0	1	0,30
14	0	0,0	7	3,10	7	2,12
15	5	4,76	30	13,27	35	10,57
Total	105	100	226	100	331	100

* $p < 0,05$ entre cepas de PEE y PEPE

PEE: portadores etapa epidémica, PEPE: portadores etapa posepidémica, NA: no agrupable, NT: no tipable.

DISTRIBUCIÓN DE SUBTIPOS

Prevalecieron las cepas P1.NST (29,31 %), P1.19,15 (22,96 %), P1.13 (12,69 %) y P1.6 (10,88 %). El resto de los subtipos mostró

porcentajes por debajo de 5 % (tabla 4). Se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre las cepas P1.NST; P1.19.15 y P1.13. En PEE predominó el subtipo P1.19.15 (61,91 %), este disminuyó significativamente en PEPE (4,87 %). Mientras que, en PEPE, las cepas P1.NST (34,96 %), mostraron un porcentaje superior al identificado en PEE (17,14 %) y el subtipo P1.13 en PEPE (16,81 %), aumentó respecto a la cifra detectada en PEE (3,84 %) ($p < 0,05$).

TABLA 4. Distribución de cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores en la etapa epidémica y posepidémica, según subtipos. Cuba, 1982-2002

Subtipos	PEE		PEPE		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
P1,NST*	18	17,14	79	34,96	97	29,31
P1,4	0	0,0	12	5,31	12	3,63
P1,5	0	0,0	8	3,54	8	2,42
P1,6	8	7,62	28	12,39	36	10,88
P1,7	0	0,0	15	6,64	15	4,53
P1,7,1	1	0,95	0	0,0	1	0,30
P1,7,10	0	0,0	1	0,44	1	0,30
P1,7,13	0	0,0	1	0,44	1	0,30
P1,10	0	0,0	1	0,44	1	0,30
P1,10,4	0	0,0	1	0,44	1	0,30
P1,12	1	0,95	10	4,43	11	3,32
P1,13*	4	3,82	38	16,81	42	12,69
P1,14	0	0,0	7	3,10	7	2,12
P1,15	3	2,85	12	5,31	15	4,53
P1,19	5	4,76	1	0,44	6	1,81
P1,19,15*	65	61,91	11	4,87	76	22,96
P1,10,13	0	0,0	1	0,44	1	0,30
Total	105	100	226	100	331	100

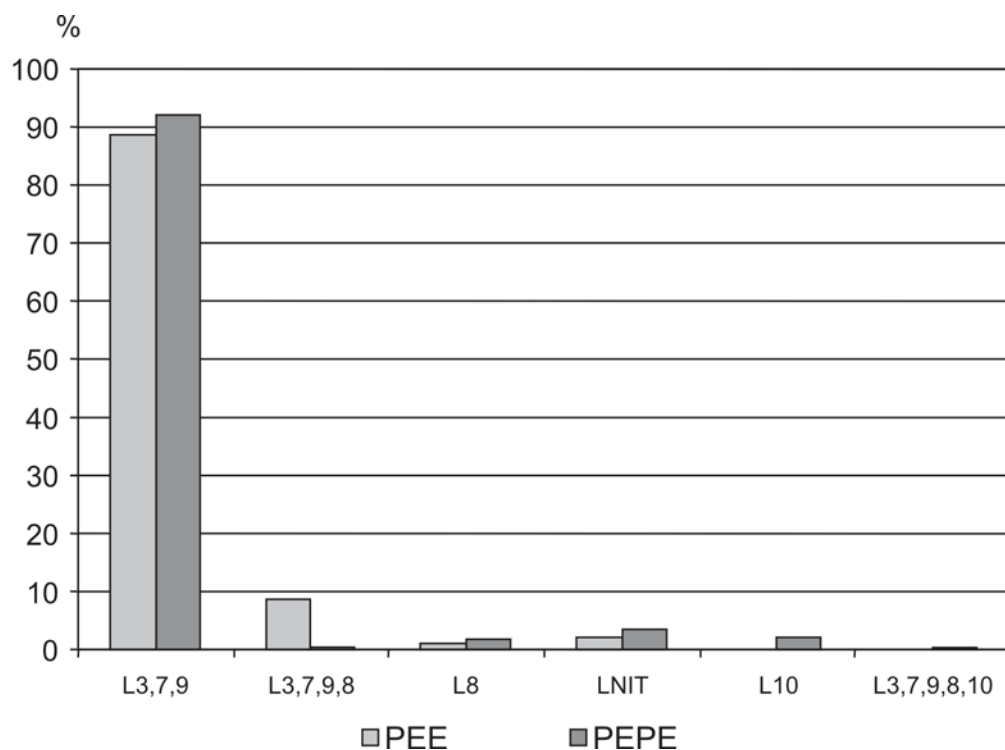
* $p < 0,05$ entre cepas de EEPE y PEPE

PEE: portadores etapa pre-epidémica, PEPE: portadores etapa posepidémica, NST: no subtipable.

DISTRIBUCIÓN DE INMUNOTIPOS

Predominó el inmunotipo L3,7,9: PEE (88,57 %) y PEPE (91,59 %). La asociación L3,7,9,8 fue mayor en PEE (8,57 %) y aunque, L8 y L10, exhibieron porcentajes bajos, fueron más frecuentes en PEPE (1,78 y 2,21 %), respectivamente. Se identificaron cifras bajas de cepas NIT en ambos grupos: PEE (1,91 %) y PEPE (3,54 %) (fig. 1).

128



PEE: portadores etapa epidémica, PEPE: portadores etapa posepidémica, LNIT: no inmunotípable.

Fig. 1. Distribución de cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores en la etapa epidémica y posepidémica, según inmunotipos. Cuba, 1982-2002

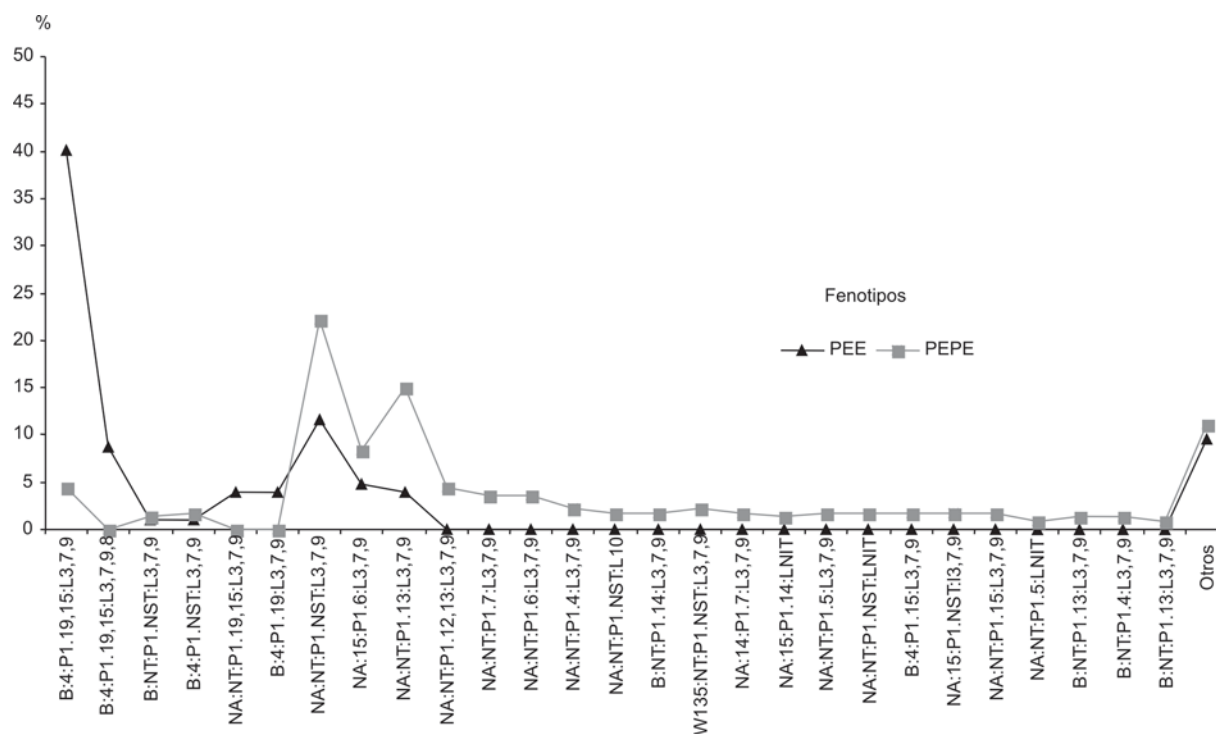


Fig. 2. Fenotipos detectados en cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores en la etapa epidémica y posepidémica. Cuba, 1982-2002

DISTRIBUCIÓN DE FENOTIPOS

Los fenotipos se muestran en la figura 2. En PEE predominó el B:4:P1.19,15:L3,7,9 (40,08 %), asociación que descendió a 4,43 % en PEPE ($p < 0,05$). Sin embargo, en PEPE prevalecieron las cepas NA:NT:P1.NST:L3,7,9 (22,12 %), fenotipo que en PEE mostró un porcentaje inferior (11,54 %). Es de destacar que en PEPE existió una mayor heterogeneidad de asociaciones fenotípicas entre las cepas detectadas. En el término “otros”, se incluyeron los fenotipos identificados en un solo aislamiento (tabla 5).

TABLA 5. Fenotipos reflejados en la Figura 2 con el término “otros” e identificados en una sola cepa de *N. meningitidis*

Fenotipos etapa epidémica	Fenotipos etapa posepidémica
1. B:NT:P1.NST:L3,7,9	1. B:14:P1.NST:L3,7,9
2. B:4:P1.NST:L3,7,9	2. NA:4:P1.19:L3,7,9
3. B:NT:P1.15:L3,7,9	3. NA:NT:P1.12,13:L3,7,9
4. NA:2b:P1.NST:L3,7,9	4. NA:15:P1.14:L3,7,9
5. B:NT:P1.6:L3,7,9	5. B:4:P1.7:L3,7,9
6. NA:4:P1.NST:L3,7,9	6. NA:NT:P1.NST:L3,7,9,10
7. NA:NT:P1.12:L3,7,9	7. NA:15:P1.19:L3,7,9
8. NA:1:P1.7,1:L3,7,9	8. Y:NT:2:L3,7,9
9. B:4:P1.19:L8	9. NA:NT:P1.10:L3,7,9
10. NA:NT:P1.19:L3,7,9	10. NA:4:P1.13:L3,7,9
	11. NA:14:P1.7,10:L3,7,9
	12. B:4:P1.4:L8
	13. B:NT:4:P1.6:L3,7,9
	14. NA:NT:P1.10,4:L3,7,9
	15. NA:4:P1.4:L10
	16. NA:NT:P1.10:L3,7,9
	17. NA:14:P1.NST:LNIT
	18. NA:4:P1.7:L10
	19. B:15:P1.NST:L3,7,9
	20. NA:1:P1.5:L3,7,9
	21. NA:4:P1.5:L3,7,9
	22. NA:NT:P1.7,10:L3,7,9
	23. Z:NT:P1.NST:L3,7,9
	24. NA:4:P1.19,15:L3,7,9
	25. B:4:P1.15:L3,7,9,8
Total = 10 Cepas	Total = 25 Cepas

DISCUSIÓN

A partir de 1885, fecha en que se reconoció el primer caso de EM en el mundo, se han descrito numerosas epidemias con diversos grados de variación e intensidad.² La tasa de incidencia anual fluctúa entre menos de 1/100 000 habitantes - 500/100 000 y cuando las epidemias se presentan, pueden extenderse durante pocas semanas, varios años y hasta dispersarse globalmente.¹⁴ En

respuesta a la epidemia de EM de Cuba causada por *N. meningitidis* B en la década de los ochenta, se obtuvo VA-MENGOC-BC®, vacuna elaborada a partir de vesículas de PME de la cepa CU385/83 (B:4:P1.19,15:L3,7,9) y PC del serogrupo C. Su aplicación en forma de campaña y posterior incorporación al PNI, controló esta epidemia. En el 2004, la incidencia de EM fue inferior (0,3/100 000 habitantes) a la que se registró al inicio de la epidemia (0,8/100 000 habitantes).¹¹ Aislamientos clínicos de esa etapa mostraron que 62,6 % de las cepas prevalentes (B:4:P1.15) pertenecieron al complejo clonal ET-5 (Martínez Motas I. *Neisseria meningitidis*: Contribución al transporte - conservación y caracterización de cepas aisladas en Cuba [1982-2002]. [Tesis para optar por el Grado Científico de Doctor en Ciencias Médicas]. 2004. Instituto de Medicina Tropical, La Habana.), también identificado en Europa y América Latina.^{14,15}

N. meningitidis coloniza la nasofaringe humana, lugar donde suele actuar como un visitante inofensivo, incapaz de ocasionar, en la mayoría de los casos, signos clínicos de infección.¹ Sin embargo, una minoría de la población colonizada puede desarrollar procesos infecciosos graves que se manifiestan de forma endémica, hiperendémica, como brotes, epidemias o pandemias, o ambas.⁸ A pesar de la importancia que se reconoce a los portadores en la biología de *N. meningitidis* y la idea que, cambios en la prevalencia de portadores con cepas de algunos fenotipos y complejos clonales, son responsables de variaciones en la epidemiología de la EM, la relación entre los portadores y casos invasivos, no está totalmente definida.^{1,2}

Al comparar PEE y PEPE se evidenciaron cambios en las cepas estudiadas. El inicio de la epidemia de EM de Cuba se caracterizó por el predominio de los serogrupos C y B, situación que motivó la aplicación de la vacuna de polisacárido A-C.⁹ Luego de esa intervención, el serogrupo B ascendió vertiginosamente y la EM se convirtió en el principal problema de salud. La situación epidémica de los años ochenta justificó el predominio del serogrupo B en PEE. Estudios realizados en Cuba durante ese período, mostraron su prevalencia en enfermos (98,7 %) y portadores (81 %).⁹ Al no existir en ese momento una vacuna

contra *N. meningitidis* B, se iniciaron investigaciones para desarrollar un candidato vacunal contra este microorganismo pero por la pobre inmunogenicidad de su PC, las estrategias se dirigieron a la obtención de inmunógenos a partir de PME, de ahí la importancia de su caracterización. PorA y PorB son antígenos proteicos capaces de inducir la formación de anticuerpos protectores y han demostrado su efectividad en ensayos clínicos (Frasch CE. Meningococcal vaccines: past, present and future. Meningococcal disease. ed. Keit Cartwright 1995, John Wiley & Sons Ltd. p. 245-83).⁵ VA-MENGOC-BC® constituye un ejemplo de vacuna elaborada a partir de PME.^{5,10}

Durante el inicio y desarrollo de la epidemia de EM en Cuba, países como Noruega, Francia y España, notificaron brotes causados por el serogrupo B,^{14,16} estudios de portadores realizados en Francia (61 %) y España (58 %), mostraron su superioridad.^{17,18} La EM por *N. meningitidis* B, representó un problema de salud para otras regiones de América Latina. Brasil sufrió en la década de los setenta una de las mayores epidemias del mundo producida por los serogrupos A y C. Sin embargo, a partir de 1986, el serogrupo B fue responsable de 80 % de los casos invasivos.¹⁹ Al concluir los años ochenta, Chile, Argentina, Colombia y EE.UU., registraron su ascenso.²⁰⁻²²

En este trabajo no se identificó al serogrupo C, ausencia quizás vinculada con la aplicación masiva de la vacuna A-C y posterior inmunización con VA-MENGOC-BC®. Después de aplicar la vacuna A-C, el serogrupo C disminuyó de 44,6 % en 1979, a 7,2 % en 1980 y en los últimos años, no se aísla de casos invasivos; estudios de portadores realizados recientemente, ratifican su ausencia (Martínez Motas I. *Neisseria meningitidis*: Contribución al transporte - conservación y caracterización de cepas aisladas en Cuba [1982-2002] [Tesis para optar por el Grado Científico de Doctor en Ciencias Médicas] 2004. Instituto de Medicina Tropical, La Habana.) (Álvarez N, Martínez I, Sotolongo F, Gutiérrez M, Zamora L, Izquierdo L, et al. *Neisseria meningitidis* carriers in a day-care center in the city of Havana. In: Abstracts of the 13th International Pathogenic *Neisseria* Conference. September 1-6. Oslo, Norway, 2002:329).²³ Sin embargo, a diferencia

de la situación de Cuba, a partir de la década de los noventa otros países notifican su ascenso,^{8,24} y en algunos, las altas tasas de incidencia de EM causada por *N. meningitidis* C condujeron a programas de inmunización contra este serogrupo.²⁵⁻²⁷ En España, antes de 1994, el serogrupo C representaba menos de 2 %; entre 1996 y 1997, ascendió (70 %) y motivó la inmunización con A-C.²⁸ Posteriormente, algunas comunidades notificaron el descenso de la cepa epidémica (C:2b:P1.5,2), pero en 2001, surgió un nuevo fenotipo (B:2a:P1.5) y la situación epidemiológica se interpretó como un evento de *switching* (cambio) capsular.²⁹ En ese período, un estudio de portadores en Gran Canaria mostró predominio del serogrupo B³⁰ y en Galicia, a pesar de la alta incidencia del serogrupo C, el número de portadores de la cepa epidémica (C:2b:P1.5,2) fue bajo.²⁵

Otros trabajos refieren el descenso de portadores del serogrupo C después de realizar campañas de inmunización contra este serogrupo.²⁸ Actualmente, la disponibilidad de vacunas conjugadas muestran un mayor impacto sobre el estado de portador.^{28,31} El Reino Unido señaló una reducción de 66 % de portadores del serogrupo C entre adolescentes, un año después de aplicar la vacuna conjugada contra este serogrupo; tampoco constataron evidencias de *switching* capsular.^{26,31} El presente trabajo identificó sobre todo en PEPE, el predominio de *N. meningitidis* NA. Cepas con estas características incluyen a meningococos que no se reconocen con los antiseros de serogrupo empleados o a cepas que carecen del gen de expresión de la cápsula, o ambos. Las cepas NA pueden integrar más de la tercera parte de los aislamientos detectados en portadores. Un trabajo realizado recientemente, notificó que 16,4 % de cepas NA perdió los genes responsables de la síntesis, modificación y transporte del PC.³² Hoy día, la epidemiología molecular permite investigar los procesos genéticos que anulan la expresión del PC, posibilita conocer aún más a las poblaciones NA y aporta datos útiles para interpretar la biología y patogenia del meningococo.^{1,3} El predominio de cepas NA, evidencia un efecto favorable para el control de la EM y pudiera expresar el impacto de las vacunas sobre el estado de portador. En regiones donde no se aplican programas

sistemáticos de vacunación contra *N. meningitidis*, la EM muestra un comportamiento epidemiológico diferente.³³

El porcentaje de los serogrupos W-135, Y y Z, fue bajo. Sin embargo, *N. meningitidis* Y y W-135 ocasionan casos esporádicos y brotes en otros países.^{2,8,34} En la década de los noventa, el serogrupo Y resultó uno de los agentes etiológicos principales de EM en EE. UU.;² y recientemente, en un trabajo realizado con una colección de cepas de portadores aisladas entre 1991-2000, en tres países diferentes (Noruega, Grecia, República Checa), el serogrupo Y se ubicó en el tercer lugar de frecuencia.⁸ Cepas de *N. meningitidis* W-135, pertenecientes al complejo clonal ET-37 fueron responsables de brotes de EM ocurridos en 2000 y 2001, vinculados con la visita del mundo islámico a La Meca, Arabia Saudita. Sin embargo, un estudio de portadores realizado durante el peregrinaje de 2003, mostró un porcentaje bajo de portadores, el predominio de cepas NA y un número reducido de individuos portaron al serogrupo W-135.³⁴ Este hallazgo, que contrastó con resultados anteriores, pudo estar quizás influenciado por la inmunización que exigen actualmente para visitar La Meca, o por la administración profiláctica de antimicrobianos a personas que regresan a los países con una alta incidencia de EM.

El serotipo 4, asociado frecuentemente al serogrupo B y al subtipo 15 (B:4:P1.15), predominó en PEE y disminuyó significativamente en PEPE. El fenotipo B:4:P1.15, principal agente etiológico de la epidemia de EM en Cuba,^{5,9,10} produjo también brotes en Europa y América Latina.^{18,19,22}

A partir de la década de los noventa, cepas del serogrupo B asociadas al sero/subtipo 4:P1.4, ocasionan una morbilidad y mortalidad elevadas en Holanda, Australia y Nueva Zelanda.³⁵⁻³⁷ El fenotipo B:4:P1.7b,4 perteneciente al complejo clonal ST-41/ST-44, linaje III, causa una epidemia en Nueva Zelanda (incidencia 17,4/100 000). La situación existente motivó el desarrollo de una vacuna contra la cepa epidémica prevalente; actualmente se inmuniza a la población de riesgo y evalúan su efecto.³⁷ Un estudio de portadores realizado en Nueva Zelanda, entre contactos familiares de casos clínicos, detectó porcentajes bajos del serogrupo B (11,3 %). Sus autores concluyeron que los resultados obtenidos reflejaron

la baja transmisión y alta virulencia de la cepa epidémica.³⁸

En PEPE aumentó el serotipo 15. Su asociación con el serogrupo B se ha notificado en cepas epidemiológicas de España (B:15:P1.15),¹⁸ Noruega (B:15:P1.7,16)¹⁴ y Chile (B:15:P1.3).²⁰ No obstante, en este trabajo, el serotipo 15 se identificó principalmente asociado con cepas NA, no virulentas o de muy baja virulencia.

Al inicio de la década de los setenta, Noruega señaló al fenotipo B:15:P1.7,16 como el principal agente etiológico de su epidemia;¹⁴ y al igual que Cuba, obtuvo una vacuna a partir de la cepa prevalente (B:15:P1.7,16). La vacuna que se aplicó en escolares de 14-16 años durante el período de 1989-1991, mostró una efectividad de 57,2 %, produjo una ligera reducción de portadores entre los vacunados y se recomendó para la inmunización de adultos con riesgo ocupacional.³⁹

Aunque el serotipo 14 se observó solo en PEPE y con un porcentaje bajo, una investigación del Instituto Pasteur con cepas aisladas de portadores lo ubicó entre los más frecuentes,¹⁷ y a partir de 1995, integra el fenotipo B:14:P1.13, asociado principalmente con casos invasivos ocurridos en el nordeste de Italia.⁴⁰

En este trabajo se identificó el predominio del inmunotipo L3,7,9. Sin embargo, otros autores refieren la frecuente asociación de este inmunotipo con cepas aisladas a partir de casos invasivos. Un estudio realizado con cepas de enfermos y portadores (todas del complejo ET-5) mostró al inmunotipo L3,7,9 en 97 % de las muestras clínicas. Mientras que, entre cepas de portadores, el porcentaje de L3,7,9 descendió a 43 % y aumentó el porcentaje de L8.⁴¹

Luego de analizar los cambios significativos observados en cepas de PEE y PEPE, estos pudieran estar íntimamente relacionados con la aplicación de VA-MENGOC-BC®; la inmunización sistemática y mantenida desde 1991, logró el control exitoso de la EM en Cuba. Es de destacar la disminución significativa de la cepa epidémica (B:4:P1.19,15:L3,7,9) entre PEPE, la ausencia de *N. meningitidis* C durante el período analizado, así como el predominio de cepas no epidemiológicas en PEPE. Estos resultados hablan a favor del impacto ejercido por la vacuna cubana entre las cepas de portadores y de su protección

de amplio espectro contra diferentes sero/subtipos del serogrupo B. Ensayos realizados en modelos animales y estudios de anticuerpos bactericidas en sueros de sujetos inmunizados, demostraron que VA-MENGOC-BC® brinda protección contra diferentes serotipos/subtipos de *N. meningitidis* B, diferentes a los de la cepa CU 385/83, aunque no igualmente contra todos.^{5,38,42} Se debe tener en cuenta que en Cuba se utilizó un esquema de vacunación de 2 dosis, separadas entre 6 y 8 semanas una de la otra; diseñada así por haberse generado bajo la presión de una epidemia.⁵ Estudios recientes han demostrado que los esquemas de 3 dosis logran una mayor eficacia serológica, incluso frente a cepas heterólogas.^{43,44} Un esquema de 3 dosis y refuerzo, como el empleado para otras vacunas, pudiera completar el buen trabajo ya realizado contra la EM en Cuba, la cual además, tiene la ventaja de haber sido una epidemia eminentemente clonal, e incluso pudiera impactar de manera más definitiva entre los portadores sanos.

Se puede concluir que, identificar y conocer los marcadores epidemiológicos circulantes entre las cepas de *N. meningitidis* aisladas de portadores asintomáticos en Cuba durante 20 años, resultó una actividad imprescindible y de gran valor para realizar una mejor interpretación epidemiológica de la EM y posibilitó también evaluar indirectamente, el impacto de VA-MENGOC-BC®. Disponer de un mejor diagnóstico e identificación de las cepas circulantes, proporciona datos importantes para el enfoque de nuevas estrategias de producción y mejoramiento de preparados vacunales contra la EM. La continuación de trabajos similares y aplicación de métodos moleculares, permitirá un mejor conocimiento de la dinámica de las cepas circulantes, para en caso necesario, valorar alternativas en la incorporación de nuevos antígenos que respondan a las cepas prevalentes.

Characterization of *Neisseria meningitidis* strains isolated from carriers in Cuba during 20 years

SUMMARY

The epidemiological markers of *Neisseria meningitidis* strains isolated from carriers in Cuba for 20 years (1982-2002) were investigated. There were identified the serogroups, serotypes,

subtypes and immunotypes of 331 strains corresponding to 2 different stages: epidemic (1982-1992) and postepidemic (1993-2002). A predominance of serogroup B (67.62 %) and of non-groupable strains (32.28 %) was observed in the epidemic stage, whereas the non-groupable strains (79.65 %) and the serogroup B (17.26 %) ($p < 0.05$) prevailed in the postepidemic stage. This study is the first and the only one up to now that investigates *Neisseria meningitidis* strains isolated from carriers before and after a national mass campaign of immunization with VA-MENGOC-BC® (Cuban antimeningococcal vaccine against the serogroups B and C). The results obtained offered valuable data to the study, prevention and successful control of the meningococcal disease in Cuba, as well as to the development and evaluation of this vaccine.

Key words: *Neisseria meningitidis*, asymptomatic carriers, epidemiological markers, phenotypes, antimeningococcal vaccine.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yazdankhah SP, Caugant DA. *Neisseria meningitidis*: an overview of the carriage state. J Med Microbiol 2004;53:821-32.
2. Rosenstein EN, Perkins BA, Stephens DS, Popovic T, Hughes JM Meningococcal disease. N Engl J Med 2001;344:1378-86.
3. Jolley KA, Kalmusova J, Feil EJ, Gupta S., Musilek M, Kriz P et al. Carried meningococci in the Czech Republic: a diverse recombining population. J Clin Microbiol. 2000; 38:4492-8.
4. Pichichero ME. Meningococcal conjugate vaccines. Expert Opin Biol Ther 2005;5:1475-89.
5. Sierra GV, Campa HC, Valcárcel NM, García IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: protection trial and mass vaccination results in Cuba. NIPH Ann 1991;14:195-207.
6. Frasch CE, Zollinger WD, Poolman JT. Serotype antigens of *Neisseria meningitidis* and a proposed scheme for designation of serotypes. Rev Infect Dis 1985;7:504-10.
7. Kuipers B, van den Dobbelaars G, Wedge E, van Alphen L. Serological characterization. In: Pollard AJ, Maiden MC, eds. Meningococcal disease: methods and protocols. Totowa (NJ): Humana Press; 2001. p. 131-45.
8. Yazdankhah SP, Kriz P, Tzanakaki G, Kremastinou J, Kalmusova J, Musilek M, et al. 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;42:5144-53.
9. Valcárcel NM, Rodríguez CR, Molinert HT. La enfermedad meningocócica en Cuba. Cronología de una epidemia. 1ra. ed. La Habana: Ed. Ciencias Médicas; 1991.
10. Pérez Rodríguez A, Dickinson F, Baly A, Martínez R. The epidemiological impact of antimeningococcal vaccination in Cuba. Mem Inst Oswaldo Cruz 1999;94:433-40.
11. Estadísticas de Salud de Cuba. Anuario Estadístico de Salud 2004. Incidencia y mortalidad por enfermedad meningocócica.1980-2004. Disponible en: <http://bvs.sld.cu/anuario/tablas/> ANUARIOCU1.1-1262.htm
12. Knapp JS, Koumans EH. *Neisseria* and *Branhamella*. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. eds. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington D.C.:ASM Press; 1999; p. 586-603.
13. Abdillahi H, Poolman JT. Whole cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. FEMS Microbiol Lett 1987;48:367-71.

14. Caugant DA, Frohølm LO, Bøvre K, Holten E, Frasch CE, Mocca LS, et al. Intercontinental spread of *Neisseria meningitidis* clones of the ET-5 complex. *Antonie van Leeuwenhoek J Microbiol* 1987;53:389-94.
15. Diermayer D, Hedberg K, Hoesly F, Fischer M, Perkins B, Reeves M, et al. Epidemic serogroup B meningococcal disease in Oregon: The evolving epidemiology of the ET-5 strain. *JAMA* 1999;281:1493-7.
16. Caugant D. Populations genetics and molecular epidemiology of *Neisseria meningitidis*. *APMIS* 1998;106:505-25.
17. Riou JY, Poolman JT, Auriol J, Lompres F, Guibourdenche M. Sero-subtyping of group B, C Y and A meningococci isolated in France 1988. *Ann Biol Clin* 1990;48:227-32.
18. Vázquez JA. Infección meningocócica. Informe del Laboratorio Nacional de Referencia de Meningococo. Años 1989-1992. *Bol Epidemiol Microbiol* 1993;1:209-11.
19. Sacchi CT, Lemos AP, Popovic T, de Moraes JC, Whitney AM, Melles CE, et al. Serosubtypes and PorA types of *Neisseria meningitidis* serogroup B isolated in Brazil during 1997-1998: Overview and implications for vaccine development. *J Clin Microbiol* 2001;39:2897-903.
20. Castillo L, Maldonado A, García J, Silva W, Ulloa MT, Valenzuela MT, et al. Caracterización de *Neisseria meningitidis* aisladas de infecciones sistémicas. Chile 1992-1993. *Rev Med Chile* 1994;122:760-7.
21. Echeverry ML, Malberty JA, Galeano ML, Sotolongo PF, Galguera MA, Montoya BC, et al. Respuesta inmune humoral al polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo C en un ensayo de vacunación antimeningocócica BC en Antioquia, Colombia. *Bol Oficina Sanit Panam* 1995;118:295-301.
22. Tondella ML, Popovic T, Rosenteins NE, Lake DB, Carlone GM, Mayer LW, et al. Distribution of *Neisseria meningitidis* serogroup B serosubtypes and serotypes circulating in the United States. *J Clin Microbiol* 2000;38:3323-8.
23. Martínez I, López O, Sotolongo F, Mirabal M, Bencomo A. Portadores de *Neisseria meningitidis* en niños de una escuela primaria. *Rev Cub Med Tropical* 2003;55:162-8.
24. 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.
25. Fernández S, Arreaza L, Santiago I, Malvar A, Berrón S, Vázquez JA, et al. Carriage of a new epidemic strain of *Neisseria meningitidis* with the incidence of meningococcal disease in Galicia, Spain. *Epidemiol Infect* 1999;123:349-57.
26. Maiden MCJ, Stuart JM, Bramley JC, MacLennan JM, Gray S, Andrew N. Carriage of serogroup C meningococci 1 year after meningococcal C conjugate polysaccharide vaccination. *Lancet* 2002;359:1829-31.
27. Navarro JA. La inmunización frente a *Neisseria meningitidis* serogrupo C con vacuna conjugada: siete años de experiencia. *Rev Pediatr Aten Primaria* 2006;8:65-86.
28. Fernández S, Arreaza L, Santiago I, Malvar A, Berrón S, Vázquez JA, et al. Impact of meningococcal vaccination with combined serogroups A and C polysaccharide vaccine on carriage of *Neisseria meningitidis* C. *J Med Microbiol* 2003;52:75-7.
29. Alcalá B, Salcedo C, Arreaza L, Berrón S, de la Fuente L, Vázquez JA. The epidemic wave of meningococcal disease in Spain in 1996-1997: probably a consequence of strain displacement. *J Med Microbiol* 2002;51:102-6.
30. García A, Bordes A, Lafarga B, Vázquez J, López E, García P, et al. Encuesta de portadores de *Neisseria meningitidis* en el área de salud de Gran Canaria. *Rev Esp Salud Pública* 2000;74:419-24.
31. Balmer P, Borrow R, Miller E. Impact of meningococcal C conjugate vaccine in the UK. *J Med Microbiol* 2002;51:717-22.
32. Claus H, Maiden MC, Maag R, Frosch M, Vogel U. Many carried meningococci lack the genes required for capsule synthesis and transport. *Microbiology* 2002;148:1813-9.
33. Sacchi CT, de Lemos AP, Camargo MC, Whitney AM, Melles CE, Solari CA. Meningococcal disease caused by *Neisseria meningitidis* serogroup B serotype 4 in Sao Paulo, Brazil, 1990 to 1996. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1998;40:65-70.
34. Balkhy HH, Memish ZA, Almunef MA, Osoba AO. *Neisseria meningitidis* W-135 carriage during the Hajj season 2003. *Scand J Infect Dis* 2004;36:264-8.
35. Australian Meningococcal Surveillance Programme. Annual report of the Australian Meningococcal Surveillance Programme, 2002. *Commun Dis Intell* 2003;27:196-208.
36. Devoy AF, Dyet KH, Martin DR. Stability of PorA during a meningococcal disease epidemic. *J Clin Microbiol* 2005;43:832-37.
37. Ameratunga S, Macmillan A, Stewart J, Scott D, Mulholland K, Crengle S, et al. Evaluating the post-licensure effectiveness of a group B meningococcal vaccine in New Zealand: a multi-faceted strategy. *Vaccine* 2005;23:2231-4.
38. Simmons G, Martin DR, Stewart J, Jones N, Calder L, Bremner D. Carriage of *Neisseria meningitidis* among household contacts of patients with meningococcal disease in New Zealand. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:237-42.
39. Fischer M, Carlone GM, Holst J, Williams D, Stephens DS, Perkins BA. *Neisseria meningitidis* serogroup B outer membrane vesicle vaccine in adults with occupational risk for meningococcal disease. *Vaccine* 1999;17:2377-83.
40. Mastrantonio P, Stefanelli P, Fazio C, Sofia T, Neri A, La Rosa G, et al. Serotype distribution, antibiotic susceptibility, and genetic relatedness of *Neisseria meningitidis* strains recently isolated in Italy. *Cin Infect Dis* 2003;36:422-8.
41. Jones DM, Borrow R, Fox AJ, Gray S, Cartwright KA, Poolman JT. The lipooligosaccharide immunotype as a virulence determinant in *Neisseria meningitidis*. *Microb Pathog* 1992;3:219-24.
42. Morley SL, Cole MJ, Ison CA, 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.
43. Tappero JW, Lagos R, Ballesteros AM, Plikaytis B, Williams D, Dykes J, et al. Immunogenicity of 2 serogroup B outer-membrane protein meningococcal vaccines: a randomized controlled trial in Chile. *JAMA* 1999;281:1520-7.
44. Perkins BA, Jonsdottir K, Briem H, Griffiths E, Plikaytis BD, Hoiby EA, et al. Immunogenicity of two efficacious outer membrane protein-based serogroup B meningococcal vaccines among young adults in Iceland. *J Infect Dis* 1998;177:683-91.

Recibido: 25 de enero de 2006. Aprobado: 5 de mayo de 2006.
 Dra. Isabel Martínez Motas. Instituto "Finlay". Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave.27 No. 19805. La Lisa. AP 16017, CP11600, Ciudad de La Habana, Cuba. Correo electrónico: isabelm.motas@infomed.sld.cu

Respuesta de anticuerpos inducidos por la vacuna antimeningocócica cubana VA-MENGOC-BC® frente a la cepa de *Neisseria meningitidis* B:4:P1.19,15 en adolescentes después de 12 años de inmunizados

María A. Camaraza¹, Isabel Martínez¹, Rolando Ochoa¹, Aida Arnet¹, Franklin Sotolongo¹, Dairis Hernández¹, Iván Cuevas¹, Antonio E. Pérez²

¹Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave.27 No. 19805. La Lisa. A.P. 16017, C.P.11600. Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: camaraza@finlay.edu.cu

²Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK). Novia del Mediodía. Km. 6½. La Lisa. Ciudad de La Habana. Cuba

Se estudió la respuesta de anticuerpos inducida por la vacuna antimeningocócica cubana VA-MENGOC-BC® contra la cepa de *Neisseria meningitidis* B:4:P1.19,15 mediante el Ensayo Bactericida del Suero (EBS) y ELISA de tipo indirecto, para medir anticuerpos contra vesículas de membrana externa (VME) de *N. meningitidis* B a 184 adolescentes de un politécnico de Ciego de Ávila que fueron inmunizados en campañas masivas 12 años antes. Se realizaron extracciones de sangre antes de aplicar la primera dosis (T₀), 4 semanas después de ésta (T₁) y 4 semanas después de la segunda dosis (T₂). Transcurridos 12 años de esta vacunación el 42% de los adolescentes presentó títulos bactericidas $\geq 1:4$ frente a la cepa homóloga (B:4:P1.19,15) y el 98% mostró anticuerpos detectables contra las VME. En el EBS; el porcentaje de seroconversión T₁/T₀ fue del 57% y T₂/T₀ del 60%. Mediante ELISA la seroconversión fue del 59% y 54%, respectivamente, por lo que se demostró que la aplicación de una sola dosis después de 12 años indujo una respuesta inmune importante que puede sugerir una respuesta anamnésica.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*, enfermedad meningocócica, ensayo bactericida del suero, ELISA, memoria inmunológica, vacunas

Introducción

Neisseria meningitidis, microorganismo gramnegativo capaz de causar meningitis y septicemia, a veces con shock séptico, constituye el agente etiológico de la enfermedad meningocócica (EM), entidad que se reconoce aún como una importante causa de morbimortalidad elevada en diferentes regiones del mundo (1, 2, 3). Entre los serogrupos de *N. meningitidis* reconocidos el A, B y C son los responsables del mayor número de casos de EM notificados en el mundo. Sin embargo, en los últimos años se ha asistido a un aumento creciente de los serogrupos Y y W135, en determinadas zonas geográficas (2, 4).

La quimioprofilaxis e inmunoprofilaxis son las dos estrategias principales empleadas para evitar los casos clínicos de EM, constituyendo la última de ellas el medio por excelencia para lograr este propósito (5). Debido a la carencia de una vacuna eficaz contra *N. meningitidis* B en el mundo y constituir la EM el principal problema de salud en Cuba durante la década del 80, entre los años 1982-1988, se desarrolló en nuestro país una vacuna antimeningocócica contra los serogrupos de *N. meningitidis* B y C (VA-MENGOC-BC®) (6). En 1989 se registró y comenzó su aplicación en Cuba en forma de campaña; en 1991 se incorporó al Programa Nacional de Inmunización (PNI) y a partir de ese momento se aplica a toda la población infantil al cumplir los tres meses de edad (primera dosis) y a los 5 meses (segunda dosis) (7).

Se han realizado varios estudios para evaluar la respuesta inmune en personas vacunadas con VA-MENGOC-BC® (8, 9, 10, 11, 12) a través de las técnicas convencionales establecidas para dicho propósito (13). Sin embargo, existen pocas investigaciones que reflejan la respuesta anamnésica a esta vacuna (14). El Ensayo

Bactericida del Suero (EBS) está considerado como la “prueba de oro” para realizar los estudios de eficacia de las vacunas antimeningocócicas (15, 16), teniendo en cuenta que la presencia de anticuerpos bactericidas en el suero está relacionada con la aparición de la EM (17).

Para estudiar la respuesta inmune a VA-MENGOC-BC® para esta investigación se seleccionó a un grupo de adolescentes pertenecientes a un politécnico de oficios de la provincia de Ciego de Ávila, una de las de mayor incidencia durante la epidemia de la EM en Cuba. Los alumnos que participaron en este estudio fueron inmunizados 12 años antes.

Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar la respuesta inmune que incluyó la memoria inmunológica, inducida por VA-MENGOC-BC® en estos adolescentes, luego de aplicarles dos dosis de la vacuna cubana, transcurridos 12 años de haber recibido la primovacuna.

Materiales y Métodos

Diseño del trabajo

Se realizó un estudio no controlado, prospectivo, abierto para la evaluación de la inmunogenicidad de VA-MENGOC-BC®.

Características de la población estudiada

De un universo total de 523 adolescentes que estudiaban en un politécnico de oficios de la provincia de Ciego de Ávila, se seleccionó al azar la tercera parte de los alumnos de cada grupo. Para esta selección se tomó en cuenta que estos pertenecieran a los

misimos dormitorios y como los grupos no tenían un tamaño homogéneo, la muestra seleccionada fue de 184 estudiantes sanos, con edades comprendidas entre 15-18 años, inmunizados con VA-MENGOC-BC® 12 años antes de realizar este estudio. Previo a su ejecución, se tuvieron en cuenta las exigencias bioéticas regulatorias nacionales e internacionales.

Esquema de vacunación

Se aplicó la vacuna antimeningocócica cubana (VA-MENGOC-BC®), siguiendo el esquema de inmunización establecido para este producto: dos dosis de 0,5 mL por vía intramuscular, con un intervalo de ocho semanas entre ambas dosis (6,7).

Secuencia de la toma de muestras de sangre

Mediante el uso de jeringuillas estériles desechables de 10 mL, se realizaron tres extracciones de sangre por vía intravenosa: antes de aplicar la primera dosis (T_0), 4 semanas después de ésta (T_1) y 4 semanas después de la segunda dosis (T_2). Todas las muestras de sangre se centrifugaron para la obtención del suero y éste se conservó en el Instituto Finlay a -20°C hasta la realización del EBS y el ELISA.

Cepa de *N. meningitidis* utilizada en el EBS

Se empleó la cepa homóloga de *N. meningitidis* B:4:P1.19,15 (CU385/83), perteneciente a la colección de cultivos del Instituto Finlay.

Determinación de la respuesta inmune

EBS: Se aplicó el procedimiento descrito por Sotolongo y colaboradores (13), siguiendo la metodología del Centro para el Control de Enfermedades (CDC), Atlanta, Estados Unidos (18).

Determinación de anticuerpos contra vesículas de membrana externa de *N. meningitidis* B (VME B)

Se realizó mediante un ELISA de tipo indirecto, según el método desarrollado por Ferriol y colaboradores (19). Los resultados se expresaron en unidades de IgG por mililitro (U/mL), usando como referencia sueros estándares de anticuerpos IgG contra la VME B. Las muestras con valores de concentración por debajo del límite de detección (700 U/mL) se reportaron como la mitad de este valor (350 U/mL).

Análisis estadístico

Se calculó la media geométrica (MG) y los intervalos de confianza al 95% (IC 95%), después de la transformación logarítmica de los valores de anticuerpos obtenidos en los tiempos estudiados. Se empleó el análisis de varianza para comparar la MG entre los grupos y la prueba exacta de Fisher para evaluar la diferencia entre los porcentajes de seroconversión. La seroconversión se definió como el aumento del título inicial en 4 o más diluciones ($\geq 1:4$) de la respuesta inducida por la vacunación con respecto a la basal existente antes de inmunizar. La significación estadística para la comprobación o no de la hipótesis fue una $p < 0,05$.

Resultados

La Tabla 1 muestra los resultados de la actividad bactericida del suero medida por EBS, contra la cepa homóloga de *N. meningitidis* B:4:P1.19,15 y la concentración de anticuerpos medidos por ELISA, frente a las VME. Doce años después de la inmunización con VA-MENGOC-BC®, el 42% de los adolescentes presentó títulos de anticuerpos bactericidas $\geq 1:4$ frente a la cepa homóloga y el 98% mostró una concentración de anticuerpos detectables contra las VME.

Tabla 1. Actividad bactericida en el suero y concentración de anticuerpos contra *N. meningitidis* B:4:P1.19,15 en adolescentes vacunados con VA-MENGOC-BC® 12 años antes. Ciego de Ávila, 2000

Ensayo	No	MG	IC	$\geq \text{NC}$	%
EBS	184	4	3-5	78	42
ELISA	183	3158	2778-3590	179	98

Leyenda: MG = Media Geométrica; IC = Intervalo de Confianza al 95%; NC = Nivel de Corte. Para EBS títulos ≥ 4 . Para ELISA ≥ 700 U/mL

La Tabla 2 presenta los porcentajes de seroconversión mediante el EBS y ELISA, frente a la cepa B:4:P1.19,15. Por EBS, posterior a la primera dosis, el porcentaje de seroconversión fue del 57% y después de la segunda dosis de un 60%. Al evaluar los resultados de la muestra por ELISA la seroconversión correspondió a un 59% y 54% después de la primera y segunda dosis, respectivamente. Por ambos métodos no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los porcentajes de seroconversión obtenidos después de las dos dosis. Se demostró que la aplicación de una sola dosis de refuerzo después de 12 años indujo una respuesta inmune importante en este grupo de edad y puso en evidencia una respuesta anamnésica. En esta Tabla el número de muestras investigadas fue menor, pues en el momento de realizar los EBS y ELISA hubo sueros correspondientes a T_1 y T_2 que no pudieron ser evaluados.

Tabla 2. Seroconversión frente a *N. meningitidis* B:4:P1.19,15 inducida por dos dosis de VA-MENGOC-BC® en adolescentes. Ciego de Ávila, 2000

Ensayo	No	Relación			
		$T_1/T_0 (\geq 4)$		$T_2/T_0 (\geq 4)$	
		No.	%	No.	%
EBS	116	67*	57	71*	60
ELISA	114	67*	59	62*	54

Leyenda: T_1/T_0 : Incremento en cuatro o más del título en el T_1 . Con respecto a T_0 ; T_2/T_0 : Incremento en cuatro o más del título en el T_2 Con respecto a T_0

* $p > 0,05$

La Tabla 3 refleja la MG y los IC al 95% de la actividad bactericida sérica frente a la cepa B:4: P1.19,15 y de la concentración de anticuerpos contra las VME. Por ambos métodos no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores T_1 y T_2 . Sin embargo, se observó diferencias ($p < 0,05$) entre estos dos tiempos

con respecto a T₀, resultante de la inmunización con VA-MENGOC-BC®.

Tabla 3. Media geométrica e intervalos de confianza de la actividad bactericida contra la cepa B y del ELISA contra las VME, inducida por dos dosis de VA-MENGOC-BC® en adolescentes. Ciego de Ávila, 2000

Tiempo	EBS B:4:P1.19,15			ELISA VME		
	No	MG	IC	No.	MG	IC
T ₀	116	4	3 - 5	114	2824	2394 - 3331
T ₁	116	15	11 - 21	114	16064	13741 - 18780
T ₂	116	15	11 - 20	114	14387	12353 - 16755

Leyenda: MG = Media Geométrica; IC = Intervalo de Confianza al 95% para EBS

Discusión

El haber encontrado un número elevado de adolescentes con actividad bactericida en el suero y una concentración de anticuerpos aceptable contra la cepa de *N. meningitidis* B:4:P1.19,15, 12 años después de la inmunización con VA-MENGOC-BC®, pudiera atribuirse a que esta vacuna indujo una respuesta inmune de larga duración. Sin descartar que la inmunidad pudo reforzarse por el contacto con algunas bacterias que tienen alguna o ninguna relación taxonómica con *N. meningitidis*, pero por poseer en su estructura antigénica epitopes semejantes, pudieran inducir anticuerpos con reactividad cruzada contra este microorganismo (20).

El posible establecimiento de la memoria inmunológica por efecto de la vacunación con VA-MENGOC-BC® pudiera considerarse un elemento de protección, si tenemos en cuenta que los anticuerpos bactericidas estimulados en la respuesta inmune secundaria forman parte de los mecanismos de defensa contra la septicemia y meningocelitis causadas por *N. meningitidis* (21).

La reinmunización con una dosis de VA-MENGOC-BC® indujo una respuesta de anticuerpos significativa frente a la cepa vacunal, la cual no se modificó apreciablemente con la aplicación de la segunda dosis y pudiera sugerir una respuesta anamnésica. Costa y colaboradores (14) realizaron entre 1994 y 1995 un estudio de la respuesta anamnésica a VA-MENGOC-BC® en el Estado de Río de Janeiro, Brasil. En su investigación incluyeron niños de tres grupos de edades, vacunados cuatro años antes con esta vacuna. Mediante el EBS, después de la primera y segunda dosis, los porcentajes de seroconversión frente a la cepa B:4:P1.19,15 fueron del 59% y 65%, en los niños de 5-7 años respectivamente, del 64% y 75% en los de 8-10 años y del 63% y 86% en los de 11-13 años de edad. Mientras que por ELISA, los porcentajes de seroconversión obtenidos frente a esta cepa fueron: después de la primera y segunda dosis 82% y 95% en los niños de 5-7 años, 80% y 95% en los de 8-10 años y 68% y 81% en los de 11-13 años, respectivamente.

En 1994 Fernández y colaboradores (22) evaluaron la cinética de la respuesta de anticuerpos bactericidas frente a la cepa homóloga B:4:P1.19,15 y de la IgG específica contra la VME, en 220 adultos jóvenes pertenecientes a una escuela militar vacunados con VA-

MENGOC-BC®. El incremento en la actividad bactericida sérica y de la IgG anti VME se observó después de aplicar la segunda dosis. Los resultados obtenidos por Fernández y colaboradores son lógicos, pues en esa investigación, la primera dosis aplicada constituyó una primovacunación.

Respecto a otros estudios, el menor porcentaje de seroconversión alcanzado por ELISA en nuestra investigación (14, 23), pudiera deberse a los altos títulos iniciales, lo que incide en un menor incremento relativo de la respuesta.

Los niveles basales de anticuerpos funcionales detectados 12 años después de la vacunación con VA-MENGOC-BC® y la respuesta observada con la revacunación, indicio de memoria inmunológica, son característicos de los inmunógenos timodependientes, lo que avala positivamente esta vacuna.

Referencias

1. Janda WM, Knapp JS. *Neisseria* and *Moraxella catharralis*. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 2003. Washington: ASM Press;2003:585-608.
2. Manchanda V, Gupta S, Bhalla P. Meningococcal disease: History, epidemiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, antimicrobial susceptibility and prevention. *Indian J Med Microbiol* 2006;24:7-19.
3. Trotter C, Samuelsson S, Perrocheau A, de Greeff S, de Melker H, Heuberger S et al. Ascertainment of meningococcal disease in Europe. *Euro Surveill* 2005;10:247-50.
4. Vázquez JA. Situación actual de la epidemiología de la enfermedad meningocócica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006;24:14-18.
5. Girard MP, Preziosi MP, Aguado MT, Kieny MP. A review of vaccine research and development: meningococcal disease. *Vaccine* 2006;24:4692-700.
6. Sierra GV, Campa HC, Valcarcel NM, García IL, Izquierdo PL, Sotolongo PF et al. Vaccine against group B *Neisseria meningitidis*: Protection trial and mass vaccination in Cuba. *NIPH Ann* 1991;14:195-10.
7. Pérez A, Dickinson F. Resultados del Programa Nacional de inmunización antimeningocócica BC en menores de 1 año en Cuba. *Rev Cub Pediatr* 1998;70:133-40.
8. Malberty JA, Sotolongo PF, Izquierdo L, Blanco R, Martínez OM, Galguera MA et al. Humoral immune response against C polysaccharide of *Neisseria meningitidis* elicited by VA-MENGOC-BC®. Preliminary results comparing children and adults from South American village. In: Conde Glez CJ, Morse SP, Rice, F, Sparling, Calderon E. *Pathobiology and Immunology of Neisseriaceae*. International Pathogenic *Neisseria* Conference. Cuernavaca, México; 1994:860-61.
9. Requeira M, Palmeiro S, Gutiérrez M, Malberty A, Sotolongo F, García AM. Estudio de cepas de *Neisseria meningitidis* circulantes en la

Portadores de *Neisseria meningitidis* y *Neisseria lactamica* en tres grupos de edades diferentes

Niury Núñez¹, Isabel Martínez¹, Luis Izquierdo¹, Niurka Álvarez², Omar López³.

¹ Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave. 27 No. 19805 e/ 198 y 202. La Coronela, La Lisa, Ciudad de La Habana. Cuba.

Correo electrónico: nnunez@finlay.edu.cu

² Centro Municipal Higiene, Epidemiología y Microbiología, Jagüey Grande, Matanzas.

³ Hospital General Docente "Comandante Pinares", San Cristóbal, Pinar del Río. Cuba.

Se determinó la prevalencia de *N. meningitidis* y *N. lactamica*, así como su relación con las variables edad y sexo en individuos de tres grupos de riesgo diferentes (círculo infantil, escuela primaria y escuela universitaria), a los que se les realizó exudado de la nasofaringe posterior. Se identificaron los marcadores epidemiológicos de las cepas de *N. meningitidis* aisladas y se analizó la presencia de otros microorganismos de la familia *Neisseriaceae*. La identificación de las cepas obtenidas se realizó por el sistema APINH (*bioMérieux*), el seroagrupamiento de *N. meningitidis* se determinó por aglutinación en lámina portaobjetos con antiseros específicos y los sero/subtipos e inmunotipos se identificaron por un ensayo inmunoenzimático de células enteras con anticuerpos monoclonales. El 10,9% de los sujetos investigados fue portador de *N. meningitidis*, cifra que aumentó con la edad. La prevalencia de portadores tuvo el siguiente comportamiento: Grupo 1: niños de 0-6 años (4,3%); Grupo 2: niños de 5-12 años (6,9%) y Grupo 3: adultos jóvenes de 17-22 años (25,1%). No hubo diferencias significativas respecto al sexo ($p > 0,05$). En el Grupo 1 predominó el fenotipo NA:NT:P1.6:L3,7,9 (71,5%), mientras que, en los Grupos 2 y 3, prevaleció la asociación NA:NT:P1.NST:L3,7,9 (36,4 y 25%, respectivamente). El predominio de cepas no epidemiológicas avala el impacto de la inmunización en Cuba con VA-MENGOC-BC®. El aislamiento de cepas de *N. lactamica* disminuyó a medida que aumentó la edad: Grupo 1 (47,5%), Grupo 2 (29,8%) y Grupo 3 (3%).

Palabras clave: Portadores, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria lactamica*, prevalencia.

Introducción

Neisseria meningitidis, patógeno exclusivo del hombre, continúa siendo uno de los agentes etiológicos más frecuentes de sepsis y meningitis en los niños de diversas partes del mundo. Se calcula que la enfermedad meningocócica (EM) ocasiona alrededor de 500 000 enfermos con 50 000 fallecidos al año (1). Entre las personas más afectadas se encuentran los niños y adultos jóvenes, grupo donde la EM ocasiona una morbilidad elevada (2, 3).

Su hábitat natural es la nasofaringe humana, donde permanece sin producir síntomas ni signos clínicos evidentes de enfermedad, dando lugar al estado de portador asintomático, condición que constituye una fuente potencial de infección y puede estar presente entre el 5-40% de los individuos sanos (4). El estado de portador de *N. meningitidis* es poco frecuente en los primeros años de vida, aumenta progresivamente en las dos primeras décadas y alcanza su pico máximo a finales de la adolescencia y principios de la adultez, para luego declinar lentamente (4, 5, 6).

Aunque el porcentaje de portadores de *N. meningitidis* en la comunidad no se asocia con la emergencia de brotes o epidemias, el conocimiento de los marcadores

epidemiológicos de las cepas circulantes en las poblaciones de riesgo, permite mantener la alerta ante la posible emergencia de fenotipos virulentos, que sí pudieran correlacionarse con un aumento de la prevalencia de la EM (7).

Por otra parte, los portadores de *N. lactamica* son más frecuentes en los primeros años de vida (0 a 4 años de edad) y su presencia en la nasofaringe humana se asocia con el desarrollo de una inmunidad protectora contra la EM (8). Se plantea que existe reactividad cruzada entre las dos especies y que la colonización por *N. lactamica* se asocia con la formación de anticuerpos bactericidas protectores. Actualmente se investiga este potencial para el desarrollo y obtención de vacunas (9). Opuesto al comportamiento de la colonización por *N. meningitidis*, *N. lactamica* disminuye al aumentar la edad (10).

En este estudio se comparó la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y *N. lactamica* en tres grupos de riesgo de Ciudad de La Habana con edades diferentes. Además, se relacionaron los resultados obtenidos con las variables edad y sexo, así como se identificaron los marcadores epidemiológicos de las cepas de *N. meningitidis* y se analizó también la presencia de otros microorganismos pertenecientes a la familia *Neisseriaceae*.

Métodos

1. Descripción de la población investigada

Población total: 641 sujetos de la provincia de Ciudad de La Habana, Cuba, integrada por tres grupos:

Grupo 1: 160 niños (0-6 años de edad), que asistían a un círculo infantil.

Grupo 2: 318 niños (5-12 años de edad), pertenecientes a una escuela primaria.

Grupo 3: 163 estudiantes adultos (17-22 años de edad) de una escuela universitaria.

2. Toma de muestra: A todos los individuos que participaron en el estudio se les realizó un exudado de la nasofaringe posterior mediante un hisopo de algodón estéril, con la ayuda de un depresor lingual para visualizar la orofaringe. La muestra se tomó durante las mañanas en los meses de mayo-junio del año 1998 (en el Grupo 3), en el 2001 (Grupo 1) y en el 2002 (Grupo 2). Luego se sembró directamente en un medio de cultivo selectivo para *Neisseria* (Agar Müeller Hilton).

3. Aislamiento de los microorganismos de interés: Se realizó la inoculación directa del hisopado en el medio de Müeller Hilton. Las placas Petri, ya inoculadas, se trasladaron al Laboratorio de Microbiología del Instituto Finlay en un lapso de tiempo menor a una hora. Posteriormente, a partir del inóculo inicial se realizó una resiembra por agotamiento en un medio de cultivo enriquecido y se incubaron a 37 °C durante 24-48 h, en atmósfera húmeda con 5% de CO₂. Las cepas aisladas se conservaron a -70 °C en leche descremada al 10%, hasta su posterior clasificación.

4. Identificación de las cepas aisladas: Una vez comprobadas las características morfológicas y tintoriales mediante la tinción de Gram, se procedió a confirmar y caracterizar a todos los microorganismos que resultaron diplococos arriñonados gramnegativos (11).

La identificación de las cepas: *N. meningitidis*, *N. lactamica*, *N. polysaccharea* y *M. catarrhalis* se realizó mediante el sistema API NH (*bioMérieux*).

5.-Clasificación de los marcadores epidemiológicos de las cepas de *N. meningitidis* aisladas

Serogrupo: Se determinó mediante la técnica de aglutinación en láminas portaobjeto con antiseros específicos de los serogrupos A, B, C, Y y W135 (11) (donados por Saint Mary's Hospital, Imperial Collage, UK).

Serotipo, subtipo e inmunotipo: Se utilizó el ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales específicos, según la metodología propuesta (12); se empleó para ello un panel comercial (RIVM, Holanda y NIBSC, UK) compuesto por seis

anticuerpos monoclonales de serotipos, trece de subtipos y tres de inmunotipos.

6. Análisis y procesamiento estadístico de los resultados:

- Sistema de procesamiento estadístico "R" licencia GNU (dominio público) (13).
- Test exacto de Fisher para detectar asociación entre las variables prevalencia del estado de portadores, edad y sexo.
- Intervalo de confianza para proporciones según el método aproximado de Wilson.
- Se tomó como nivel estadísticamente significativo $\alpha = 0,05$.

Resultados y Discusión

Prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y *N. lactamica*

En los niños que asisten a círculos infantiles convergen factores que favorecen la colonización de la nasofaringe por bacterias potencialmente patógenas, entre ellos: mantener un contacto estrecho durante varias horas del día, presentar con frecuencia infecciones respiratorias altas, uso indiscriminado de antimicrobianos, antecedente de padecer procesos alérgicos, entre otros. Sin embargo, la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* es baja y así lo señalan otros autores (8, 9). El elevado porcentaje de portadores de *N. lactamica* (47,5%) que se detectó en este estudio pudo influir en este resultado. Se conoce que existe reactividad cruzada entre ambas especies y se sugiere que *N. lactamica* ejerce un efecto protector debido a su capacidad para estimular la formación de anticuerpos bactericidas contra *N. meningitidis* (9, 10).

En los niños menores de cinco años es donde se señala la menor prevalencia de portadores de *N. meningitidis*, sin embargo este grupo presenta la mayor incidencia de EM (4, 5). En Cuba, la población infantil está protegida contra esta enfermedad, ya que desde 1991 la vacuna antimeningocócica contra *N. meningitidis* de los serogrupos B y C (VA-MENGOC-BC®), se incorpora al Programa Nacional de Inmunización, aplicándose la 1ra dosis a todos los niños a los tres meses de nacidos y la 2da dosis a los cinco meses (14). Su aplicación sistemática y mantenida pudiera también contribuir al bajo porcentaje de portadores de *N. meningitidis* detectado en este grupo.

Al analizar los niños de la escuela primaria, se detectó un porcentaje de portadores de *N. meningitidis* ligeramente superior (6,9%) al del primer grupo. En Cuba se realizó una Encuesta Nacional de Portadores para determinar la prevalencia de *N. meningitidis*, cinco años después de aplicar la vacuna antimeningocócica A-C, estudio que abarcó el 20% de los alumnos de primaria y secundaria básica (ambas con régimen de internado) de cada una de las provincias del país, excepto Ciudad de La Habana, que incluyó una muestra

representativa de su población. Las tasas de portadores oscilaron desde 3,3% en la provincia de Granma, cifra inferior a la de escolares del Grupo 2, hasta el 23,3% en Cienfuegos, con un promedio de 12,1% (14). Sin embargo, en países como Grecia y España señalan valores similares a los detectados en nuestro estudio (15, 16). El aislamiento de *N. lactamica* se correspondió con un 30% de prevalencia en este grupo, continuaron los valores elevados en comparación con el tercer grupo (17-22 años), pero se observa una disminución con relación al primero.

Al analizar el porcentaje de portadores de *N. meningitidis* entre los estudiantes universitarios (Grupo 3), se observó una prevalencia del 25,1%, este valor se encuentra dentro del rango descrito por Blackwell y colaboradores (24-37%) en grupos con edades similares (17). Las características de esta población contribuyen al elevado número de portadores de *N. meningitidis*. Generalmente, es en los adolescentes y adultos jóvenes donde se describen los mayores porcentajes de portadores, por ser estudiantes militares, están sometidos a diferentes actividades como: movilizaciones, acampadas, convivencia en régimen de internado; todas estas características propician una mayor interacción social que favorece la transmisión de microorganismos potencialmente patógenos, en particular *N. meningitidis* (18). En adolescentes, el consumo de bebidas alcohólicas y el hábito de fumar son factores predisponentes para la colonización por este microorganismo (19). Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos con *N. lactamica*, el porcentaje de portadores fue más bajo (3%). En este trabajo se puso de manifiesto el comportamiento habitual de *N. lactamica*, tasas de colonización nasofaríngea elevadas en los niños pequeños y su disminución paulatina al aumentar la edad.

El comportamiento descrito anteriormente para la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y *N. lactamica*

en los tres grupos de riesgo analizados se observa en la Figura 1.

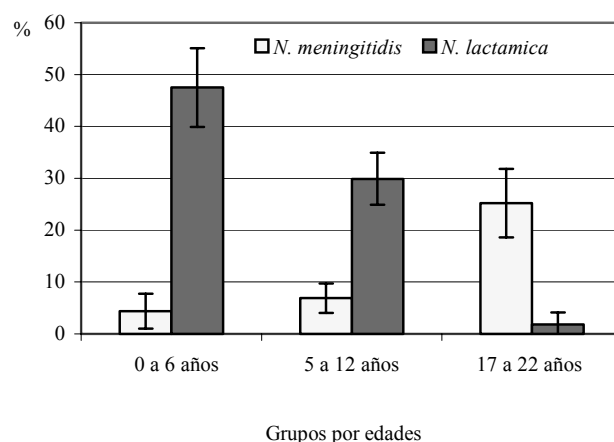


Figura 1. Prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y *N. lactamica* en los tres grupos de riesgo, según la edad.

Relación de la prevalencia de portadores de ambos microorganismos y el sexo

En las Figuras 2 y 3 se muestra la relación existente entre el sexo y la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y *N. lactamica*, respectivamente. En ninguno de los dos microorganismos esta relación fue significativa ($p < 0,05$), sin embargo, el riesgo relativo mostró una tendencia al predominio de portadores de *N. meningitidis* en el sexo masculino, situación que pudo estar favorecida por un mayor número de portadores de *N. meningitidis* en el Grupo 3, población que se correspondió con una escuela militar y donde existió un mayor número de varones. Otros autores señalan también la prevalencia de portadores asintomáticos en este género (20, 21).

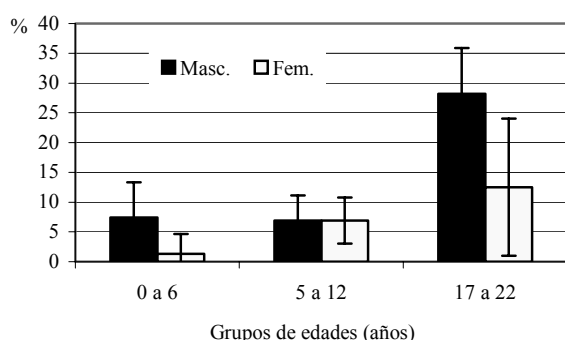


Figura 2. Relación entre la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y el sexo, según la edad.

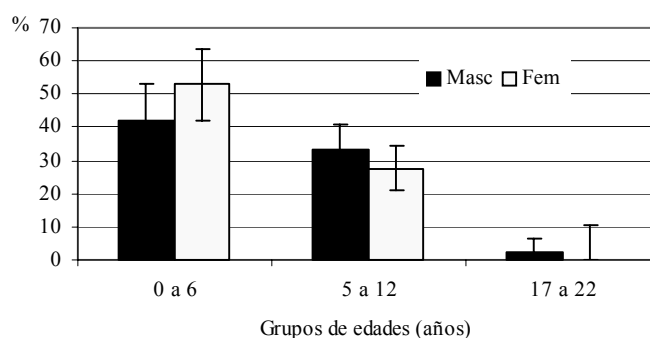


Figura 3. Relación entre la prevalencia de portadores de *N. lactamica* y el sexo, según la edad.

Marcadores epidemiológicos de los aislamientos de *N. meningitidis*

La Tabla 1 muestra los marcadores epidemiológicos de serogrupos, sero/subtipos e inmunotipos identificados en las cepas de *N. meningitidis* aisladas por grupo. Se observa que a medida que la edad aumenta, la variedad en estos

marcadores fue mayor. En la Figura 4 se presentan las diferentes asociaciones fenotípicas detectadas en las cepas de *N. meningitidis* a partir de la combinación de estos marcadores: **serogrupo: serotipo: subtipo: inmunotipo**, Coincidiendo con Taha y colaboradores, se obtuvo una gran heterogeneidad en el fenotipo de estas cepas (22).

Tabla 1. Marcadores epidemiológicos identificados en las cepas de *N. meningitidis* aisladas por grupo de edad.

Grupos (años)	Serogrupo	%	Serotipo	%	Subtipo	%	Inmunotipo	%
Grupo 1 (0-6)	NA	100	NT	100	P1.6	71,4	L3.7.9	100
	NA	90,9	NT	63,6	P1.NST	50	L3.7.9	95,4
	Y	9,1	15	18,2	P1.6	18,2	NIT	4,6
Grupo 2 (5-12)			4	9,1	P1.7	9,1		
			14	9,1	P1.2	4,5		
					P1.10	4,5		
					P1.12	4,5		
					P1.13	4,5		
					P1.19	4,5		
Grupo 3 (17-22)	NA	80,5	NT	80,5	P1.NST	39	L3.7.9	92,7
	B	17,1	4	7,3	P1.13	19,5	NIT	7,3
	W135	2,4	15	7,3	P1,15	12,2		
			14	4,9	P1.6	7,3		
					P1.12	7,3		
					P1.4	4,9		
					P1.7	4,9		
					P1.14	2,4		
					P1.5	2,4		

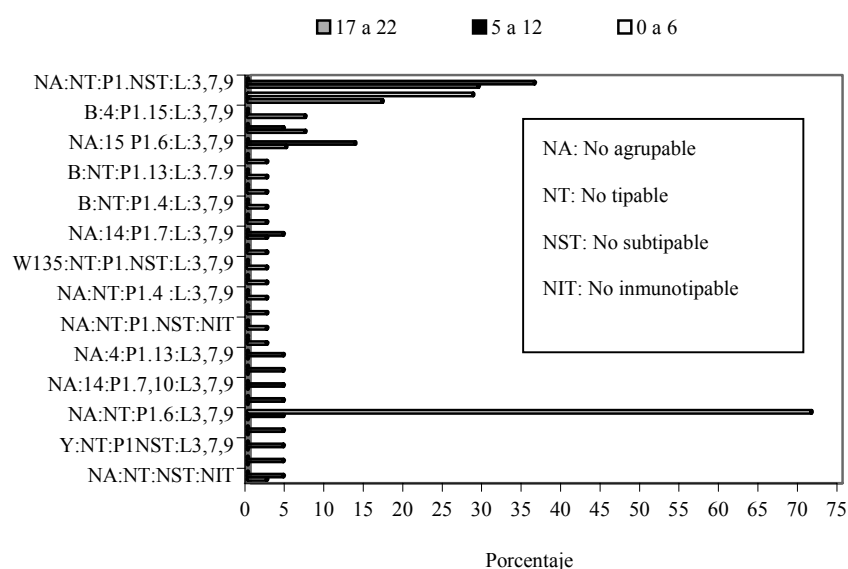


Figura 4. Asociaciones fenotípicas de las cepas de *N. meningitidis* aisladas por grupo.

Las asociaciones fenotípicas que predominaron por grupo de edad fueron:

En el Grupo 1:

NA:NT:P1.6:L3,7,9 (71,5%).

En los Grupos 2 y 3:

NA:NT:P1.NST:L3,7,9 (36,4 y 25%, respectivamente).

No se identificó al serogrupo C y la asociación B:4:P1.19,15:L3,7,9 sólo se observó en el Grupo 3.

La prevalencia de fenotipos no epidemiológicos y la ausencia del serogrupo C son aspectos a favor del impacto ejercido por la inmunización sistemática con VA-MENGOC-BC® en Cuba.

Presencia de otras especies de la familia *Neisseriaceae* por grupo de edad

M. catarrhalis y *N. polysaccharea* se describen como comensales inocuos del tracto respiratorio superior del hombre. *M. catarrhalis* se detecta como miembro de la flora normal en el 40-50% de los escolares sanos y constituye el tercer agente etiológico de otitis media en los niños pequeños. Sin embargo, entre los adultos puede provocar complicaciones broncopulmonares, aunque se asocia también con otras manifestaciones clínicas (1).

Hasta la fecha, las cepas de *N. polysaccharea* detectadas en la nasofaringe no están asociadas con ninguna entidad clínica (23). Al igual que *N. meningitidis*, otras especies del género *Neisseria* como: *N. lactamica*, *N. polysaccharea* y *N. gonorrhoeae* crecen en medios de cultivo con inhibidores, vancomicina, nistatina y colistina, antimicrobianos que se añaden al medio con el objetivo de inhibir el crecimiento de la flora bacteriana presente en algunos sitios anatómicos y es por eso que se requiere de una correcta diferenciación entre esas especies (1).

Los porcentajes de los aislamientos de *N. polysaccharea* y *M. catarrhalis* en los tres grupos investigados fueron bajos. Esto pudiera estar dado por la presencia de *N. lactamica* y *N. meningitidis* de forma alternada en los individuos analizados (Figura 5). Estos resultados coinciden con los reportes de otros autores (1). Debemos señalar que en ningún caso coincidieron los microorganismos aislados: *N. meningitidis*, *N. lactamica*, *N. polysaccharea* y *M. catarrhalis* en un mismo individuo.

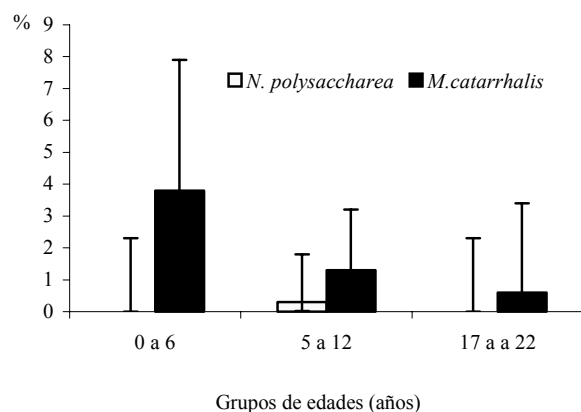


Figura 5: Presencia de *M. catarrhalis* y *N. polysaccharea* por grupos de edad.

Conclusiones

- La prevalencia de portadores de *N. meningitidis* fue baja en el Grupo 1, aumentó ligeramente en el Grupo 2 y

alcanzó su máxima expresión en el Grupo 3, comportamiento opuesto al de *N. lactamica*.

- No se obtuvieron diferencias significativas entre la prevalencia de portadores de *N. meningitidis* y *N. lactamica* con relación al sexo. Sin embargo se observó una tendencia al predominio del sexo masculino entre los portadores de *N. meningitidis*.
- La variabilidad fenotípica aumentó progresivamente con la edad. En el Grupo 1 predominó el fenotipo NA:NT:P1.6:L3,7,9, mientras que en los Grupos 2 y 3 el NA:NT:P1.NST:L3,7,9.
- El fenotipo B:4:P1.19,15:L3.7,9, causante de la epidemia ocurrida en Cuba en la década del 80, sólo se aisló en el tercer grupo.
- Los aislamientos de *N. polysaccharea* y *M. catarrhalis*, mostraron porcentajes inferiores con relación a otras *Neisserias*.

Referencias

- Martínez I. *Neisseria* y *Moraxella catarrhalis*. En: Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL, editores. Microbiología y Parasitología Médica. Tomo I. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001:217-38.
- Hodgson A, Smith T, Gagneux S, Adjuk M, Pluschke G, Kumasenu N, et al. Risk factor for meningococcal meningitis in northern Ghana. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 2001; 95:477-80.
- WHO. Control of epidemic meningococcal disease. Practical guidelines, 2nd ed. Geneva, WHO/ EMC/ BAC/98.3. 1998.
- Cartwright K. Meningococcal disease. Meningococcal carriage and disease. England: John Wiley & Sons, Ltd.; 1995:115-26.
- Caugant DA, Hoiby EA, Magnus P, Scheel O, Hoel T, Bjune G, et al. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in a randomly sampled population. J Clin Microbiol 1994; 32: 323-30.
- McLennan JM, Andrews N. Risk factors for carriage of *Neisseria meningitidis* in British teenagers, IPNC 2003. 13th International Pathogenic *Neisseria* Conference. September 1-6, 2002. Oslo, Norway: 369.
- Arreaza L y Vázquez J. Portadores de meningococo: un enigma a finales del siglo XX. Enfer Infecc Microbiol Clin 2000; 18:352-355.
- Kremastinov J, Tzanakaki G, Velonakis E, Voyiatzi A, Nickolaou A, Elton RA, et al. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* among ethnic Greek school children from Russian immigrant families in Athens. FEMS Immunol Med. Microbiol 1999; 23(1):13-20.
- Gold R, Goldschneider I, Lepow ML, Draper TF and Randolph M. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in infants and children. J Infect Dis 1978; 137:112-21.

10. Olsen S, Djurhuus K, Rasmussen H, Joensen HD, Larsen SO, Zoffman H et al. Pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in households with infants within areas with high and low incidences of meningococcal disease. *Epidemiol Infect* 1991; 106:445-57.
11. Sotolongo F. *Neisseria meningitidis*: Aspectos teóricos-prácticos sobre el diagnóstico, clasificación y valoración de la respuesta inmune. Serie monográfica. Ciudad de La Habana: Ediciones Finlay; 1995:2-14.
12. Abdillahi H and Poolman JT. Whole cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. *FEMS Microbiol Letters* 1987; 48:367-71.
13. R Development Core Team (2006). "R": A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical computing, <http://www.R-project.org>.
14. Valcárcel M, Rodríguez R y Terry H. La enfermedad meningocócica en Cuba. Cronología de una epidemia. 1era. Ed. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas de Cuba (ECIMED); 1991:319-97.
15. Ramos Aceitero JM. Surveys on the rates of healthy carriers of *Neisseria meningitidis* and characterization of circulating strains. *Rev Esp Salud Pública*. 2000; 74(4): 413-7.
16. Pavlopoulou I, Alexandrou H, Daikos G, Petridou E, Pangalis A, Theodoridou M et al. Carriage of *N. meningitidis* in school children: Risk factors and strain characteristics. Meeting European Society for Pediatrics Infectious Diseases (ESPID). 2002:1.
17. Blackwell CC, Tzanakaki G, Kremastinou J, Weir DM, Wakalis N, Elton RA, et al. Factors affecting carriage of *Neisseria meningitidis* among Greek military recruits. *Epidemiol Infect* 1992; 108: 441-8.
18. Nelson JD. Jails, microbes and the three-foot barrier. *New Engl J Med* 1996; 335:885-6.
19. Cookson ST, Corrales R, Lotero JO, Regueira M, Binsztein N, Reeves MW, et al. Disco fever epidemic meningococcal disease in north-eastern Argentina associated with disco patronage. *J Infect Dis* 1998; 178: 266-9.
20. Caugant DC, Hoiby EA, Rosenqvist E, Froholm LO y Selander RK. Transmisión of *Neisseria meningitidis* among asymptomatic military recruits and antibody analysis *Epidemiol Infect*. 1992; 109: 241-253.
21. García RA, Bardes BA, Lafarga CB, Vázquez JM, López VE, García CP, et al. Encuesta de portadores de *Neisseria meningitidis* en el área de salud de Gran Canaria. *Rev Esp Salud Pública* 1998;72(5):459-61.
22. Taha MK, Degh AE, Antignac A, Zarantonelli ML, Larribe M and Alonso JM. The duality of virulence and transmissibility in *Neisseria meningitidis*. 2002;10(8):376-81.
23. Riou JY, Guibourdenche M and Popoff MY. A new taxon in the genus *Neisseria*. *Ann Microbiol (Inst Pasteur)* 1983; 134B:257-67.
24. Sáez-Nieto JA, Vázquez J, Casal J. Reactividad cruzada de *Neisseria lactamica* con sueros antimeningocócicos. *Inmunologica*. 1980; 6:65-9.

Carriers of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in three different age groups

Abstract

Prevalence of *N. meningitidis* and *N. lactamica*, as well as their relationship to age and sex variables in individuals of three different risk groups (day care centers, primary school and universities) was determined by performing an exudate of upper naso-pharynx. Epidemiological markers of the isolated *N. meningitidis* strains were identified and the presence of other microorganisms of Neisseriaceae family was identified. Identification of the strains obtained was carried out by API NH (*bioMérieux*) system; sero-grouping of *N. meningitidis* was determined by agglutination in slides with specific antisera and sero/subtypes and immunotypes were identified by an immuno-enzymatic assay of whole cells with monoclonal antibodies. The 10.9% of investigated subjects was carrier of *N. meningitidis*, which increased with age. Prevalence of carriers had the following behavior: Group 1: children from 0-6 years old (4.3%); Group 2: children from 5-12 years old (6.9%) and Group 3: young adults from 17-22 years old (25.1%). No significant differences were observed with respect to sex ($p > 0.05$). In Group 1, phenotype NA:NT:P1.6:L3.7.9 (71.5%) predominated while in Groups 2 and 3, the association NA:NT:P1.NST:L3.7.9 (36.4 and 25%, respectively) prevailed. Predominance of non-epidemiogenic strains support the impact of immunization in Cuba with VA-MENGOC-BC®. Isolation of strains of *N. lactamica* decreased with the increase of age: Group 1 (47.5%), Group 2 (29.8%) and Group 3 (3%).

Keywords: Carriers, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria lactamica*, prevalence.

Recibido: Marzo de 2007

Aceptado: Julio de 2007

Evaluación de anticuerpos contra enfermedades prevenibles por vacunas en el binomio madre–recién nacido en hospitales de Ciudad de La Habana

Rolando Felipe Ochoa¹, Josué Acosta², Xenia Rosa Ferriol¹, Mónica Ginebra¹.

¹ Instituto Finlay. Centro de Investigación-Producción de Vacunas. Ave 27 No. 19805, e/ 198 y 202.

La Lisa, Ciudad de La Habana. Cuba.

Correo electrónico: ochoa@finlay.edu.cu

² Centro Nacional de Genética Médica. Playa, Ciudad de La Habana.

El sistema inmune es inmaduro en los recién nacidos, lo que los hace susceptibles a las enfermedades infecciosas, sin embargo, pueden ser parcialmente protegidos por los anticuerpos adquiridos a través de la placenta. Por ello, nos propusimos evaluar la transferencia transplacentaria de anticuerpos contra algunas enfermedades prevenibles por vacunas. Se realizó un ensayo prospectivo, aleatorio, en el binomio madre–recién nacido. Para ello se analizó un total de 96 pares de muestras de suero, tomadas en el salón de parto y al nacimiento en hospitales de Ciudad de La Habana, durante el año 2004. Se emplearon técnicas inmunoenzimáticas para determinar los niveles de antitoxina tetánica (ATT), antitoxina diftérica (ATD) y anticuerpos contra proteínas de membrana externa del meningococo B (PME), contra el polisacárido capsular del meningococo C (PSC) y contra el polisacárido Vi de *Salmonella* Typhi. Se detectó un nivel apropiado de ATT, tanto en las madres como en los recién nacidos, predominando los valores correspondientes a la protección de larga duración (>1 UI/mL), con 88,54% y 92,71%, respectivamente. Se observó niveles de ATD inferiores a 0,1 UI/mL, límite para una protección confiable, en el 54,17% y 45,83% de las madres y los recién nacidos. El 90,63% de las madres y el 96,88% de los recién nacidos presentaron concentraciones de anticuerpos contra PME superiores a 2 μ g/mL, así como el 38,54% y el 41,67% para anticuerpos contra PSC. La seroprotección contra la *Salmonella* Typhi (>1 μ g/mL) fue de 5,21% y 8,33%, respectivamente. La mayoría de los recién nacidos presentaron títulos superiores de anticuerpos al de sus madres, lo cual demuestra que la transferencia transplacentaria de anticuerpos es un mecanismo eficiente.

Palabras clave: Anticuerpos transplacentarios, vacuna, antitoxina tetánica, antitoxina diftérica, meningococo, *Salmonella* Typhi.

Introducción

El sistema inmune es inmaduro en los recién nacidos, pero pueden ser parcialmente protegidos por los anticuerpos adquiridos a través de la placenta, de ahí que la inmunización a la embarazada constituya una estrategia fundamental para la protección de los neonatos (1).

Sin embargo, muchos lactantes en los países en desarrollo todavía mueren de tétanos porque sus madres no poseen adecuados niveles de antitoxina tetánica durante el embarazo (2).

La difteria, enfermedad también inmunoprevenible, ha resurgido en los últimos años, afectando principalmente a los adultos que han perdido la inmunidad inducida por vacunas recibidas en la infancia y a los niños no vacunados, tal y como ha sucedido en los estados que surgieron de la antigua Unión Soviética y los países de la Europa Oriental (3).

Por otra parte, los serogrupos B y C de *Neisseria meningitidis* son responsables de la mayor parte de los casos de la enfermedad meningocócica en Latinoamérica (4) y la fiebre tifoidea es aún un serio problema de salud en los países en desarrollo (5).

La estrategia cubana para el control de estas enfermedades, se apoya en gran medida en el diseño de eficientes programas de inmunización.

A inicios de la década de 1960 comienzan las campañas masivas de vacunación con la vacuna trivalente contra la difteria, tos ferina y tétanos (DPT), la bivalente contra la difteria y el tétanos (DT) y el toxoide tetánico. En 1972 se erradica el tétanos neonatal, como consecuencia de la política inmunitaria con las embarazadas. El último caso de difteria se registra en 1979, y en los años 2004 y 2005 no se detectaron casos de tétanos (6).

Con relación a la enfermedad meningocócica, se habían descrito históricamente tan sólo casos esporádicos y pequeños brotes, hasta que en 1976 comienza una importante epidemia de magnitud sin precedentes, a predominio del serogrupo C. Una vacunación masiva con una vacuna de polisacárido A/C redujo sustancialmente los casos debidos a ese serogrupo, pero no pudo revertir esta situación, pues la incidencia continuó en ascenso, ahora a expensas del serogrupo B. Ante la magnitud de la epidemia se crea en 1982 un grupo de investigación en el Instituto Finlay, que en tan sólo cinco años logra una vacuna contra los serogrupos B y C de *Neisseria meningitidis*: VA-MENGOC-BC®. En

1988 comienza a emplearse, y hasta 1990 se realiza una campaña masiva de inmunización que provocó la erradicación de la epidemia. En 1991 se incorpora al Programa Nacional de Inmunización (6).

La prevención de la fiebre tifoidea en grupos poblacionales con riesgo de la enfermedad requirió inicialmente del empleo de una vacuna de células enteras inactivadas. A partir del año 2002 se emplea una vacuna de polisacárido Vi de *Salmonella* Typhi, producida también en dicha institución (6).

A pesar de estos logros, deben realizarse nuevos estudios inmunoepidemiológicos atendiendo a la situación existente en otros países y al intercambio actual con la comunidad internacional. Por todo ello, nos propusimos evaluar la transferencia transplacentaria de anticuerpos contra las enfermedades prevenibles por las vacunas seleccionadas y determinar la susceptibilidad de los recién nacidos a estas enfermedades.

Materiales y métodos

Diseño de la investigación

Se realizó un estudio prospectivo, aleatorio, en 96 madres y sus recién nacidos durante el año 2004. La aprobación ética del estudio fue emitida por el Comité correspondiente del Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. Se brindó una adecuada información previa y se obtuvo el consentimiento por escrito de ambos padres (6, 7).

Se tomaron en el salón de parto las muestras de suero de la embarazada y las del recién nacido durante el proceso de corte del cordón umbilical. Las muestras de suero que se obtuvieron fueron identificadas y almacenadas a -20°C hasta su procesamiento.

Determinación de los niveles de anticuerpos séricos en las madres y los recién nacidos

Se utilizaron ensayos inmunoenzimáticos en fase sólida (ELISA), previamente estandarizados y validados, para la cuantificación de antitoxina tetánica, antitoxina diftérica y anticuerpos contra proteínas de membrana externa de

meningococo B (PME) y el polisacárido capsular del meningococo C (PSC), así como anticuerpos contra el polisacárido Vi de *Salmonella* Typhi (8, 9). La validación, cuantificación e impresión se realizó mediante el paquete de programas ELISA de los Centros para el Control de las Enfermedades (CDC, Atlanta) (GA) (10).

Métodos estadísticos

El cálculo del tamaño de la muestra se basó en las siguientes premisas: Prevalencia cuantificable de anticuerpos del 85%, confiabilidad del 95%, y precisión del 10% (6). El reclutamiento fue adicionalmente aumentado.

Se calculó la media geométrica (MG) y el intervalo de confianza al 95% (IC) de cada distribución de anticuerpos después de la transformación logarítmica. Los resultados se clasificaron según el nivel de anticuerpos. Antitoxinas tetánica y diftérica: $< 0,1$ UI/mL niveles de antitoxina no adecuados para conferir protección, $\geq 0,1$ UI/mL niveles de antitoxina para una protección confiable, y $> 1,0$ UI/mL protección confiable de larga duración (2, 4, 8, 9). Anticuerpos contra PME y PSC: > 2 $\mu\text{g/mL}$ nivel de corte considerado protector (8, 9). Anticuerpos contra el polisacárido Vi: Se consideró 1 $\mu\text{g/mL}$ como el valor protector (5).

El índice de transferencia se definió como la relación entre los niveles de anticuerpos de los recién nacidos y sus madres. Se consideró como eficiente un índice > 1 .

Para los análisis estadísticos se empleó la prueba t de Student y la prueba exacta de Fisher. En todos los casos se consideró un error de primer tipo $\alpha=0,05$ (6).

Resultados

Se detectaron adecuados niveles de antitoxina tetánica. La mayor parte de las madres y los recién nacidos presentaron valores correspondientes a la protección de larga duración (Tabla 1).

Para la antitoxina diftérica se observaron niveles no adecuados ($<0,1$ UI/mL) en el 54,17% de las madres y el 45,83% de los recién nacidos (Tabla 2).

Tabla 1. Distribución de anticuerpos antitoxina tetánica.

UI/mL	Madres (96)		Recién Nacidos (96)	
	n	%	n	%
$<0,1$	0	0	0	0
$\geq 0,1$	96	100	96	100
>1	85	88,54	89	92,71
MG	3,260		4,688	
IC 95 %	2,705 – 3,928		3,873 – 5,674	

UI/mL: Unidades Internacionales por mililitro

MG: Media Geométrica

IC 95 %: Intervalo de Confianza al 95 %

Tabla 2. Distribución de anticuerpos antitoxina diftérica.

UI/mL	Madres (96)		Recién Nacidos (96)	
	n	%	n	%
<0,1	52	54,17	44	45,83
≥0,1	44	45,83	52	54,17
>1	0	0	1	1,04
MG	0,085		0,102	
IC 95 %	0,069 – 0,106		0,082 – 0,126	

UI/mL: Unidades Internacionales por mililitro

MG: Media Geométrica

IC 95 %: Intervalo de Confianza al 95 %

La mayor parte de los sujetos estudiados tenían anticuerpos protectores contra las PME ($> 2 \mu\text{g/mL}$). Se detectaron menores niveles de anticuerpos contra el PSC (Figura 1).

Se demostró insuficiente seroprotección contra la fiebre tifoidea, tanto en las madres como en los recién nacidos (Figura 2).

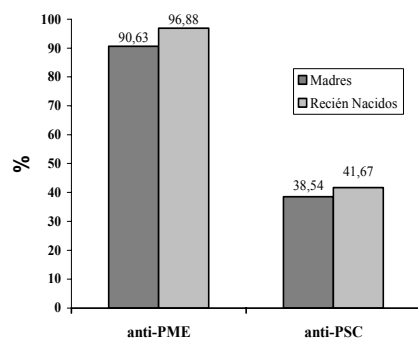


Figura 1. Porcentaje de sujetos con niveles de anticuerpos $> 2 \mu\text{g/mL}$ contra proteínas de membrana externa de *Neisseria meningitidis* serogrupo B y el polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo C.

La media geométrica de los anticuerpos estudiados fue siempre mayor en los recién nacidos ($p < 0,001$) (Tablas 1-4), sin embargo, no se detectaron diferencias ($p > 0,05$) cuando los resultados se evaluaron según los niveles de anticuerpos protectores definidos en cada caso (Tablas 1, 2), Figuras 1, 2).

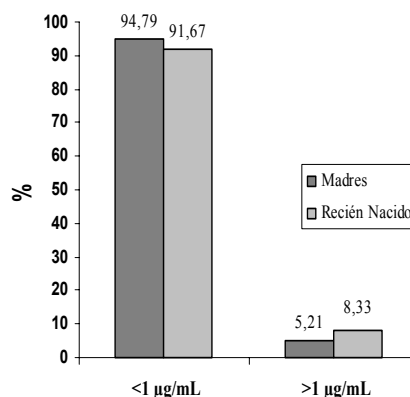


Figura 2. Tasas de seroprotección contra fiebre tifoidea.

Tabla 3. Anticuerpos IgG contra proteínas de membrana externa de *Neisseria meningitidis* serogrupo B y el polisacárido capsular de *Neisseria meningitidis* serogrupo C.

µg/mL	Anti-PME		Anti-PSC	
	Madres (96)	R Nacidos (96)	Madres (96)	R Nacidos (96)
MG	4,497	5,916	1,591	2,025
IC 95 %	3,905-5,179	5,192-6,741	1,224-2,069	1,570-2,613

MG: Media Geométrica

IC 95 %: Intervalo de Confianza al 95 %

Tabla 4. Anticuerpos IgG contra el polisacárido Vi de *Salmonella* Typhi.

µg/mL	Anti-Vi	
	Madres (96)	Recién Nacidos (96)
MG	0,349	0,422
IC 95 %	0,281-0,434	0,337-0,528

MG: Media Geométrica

IC 95 %: Intervalo de Confianza al 95%

Tabla 5. Binomio madre –recién nacido con índice de transferencia de anticuerpos eficiente.

	Antitoxina tetánica	Antitoxina diftérica	Anti-PME	Anti-PSC	Anti-Vi
Proporción	0,81	0,66	0,81	0,76	0,69
IC 95%	0,72-0,88	0,56-0,74	0,72-0,88	0,67-0,84	0,60-0,77

IC 95 %: Intervalo de Confianza al 95 %

La transferencia transplacentaria de anticuerpos fue eficiente, la mayor parte de los recién nacidos presentaron niveles superiores a los de sus madres ($p < 0,001$) (Tabla 5).

Discusión

La antitoxina tetánica transferida de la madre al feto protege al recién nacido contra el tétanos neonatal (1, 2, 8, 9). Esta enfermedad ha desaparecido en Cuba gracias al establecimiento de la vacunación de las gestantes, con el objetivo de garantizar elevados niveles de inmunidad en los recién nacidos, lo que se corrobora con nuestros resultados. Sin embargo, se detectaron niveles insuficientes de antitoxina diftérica, lo que podría incrementar el riesgo de infección (3, 8, 9). Consideramos que el nivel de inmunidad antidiftérica debe declinar en la adolescencia, teniendo en cuenta el Esquema Cubano de Inmunización que contempla el toxoide diftérico en las vacunas combinadas utilizadas durante los dos primeros años de vida y un único refuerzo con DT a los 6 años de edad. Los adultos no tienen tampoco la posibilidad de refuerzos a través de infecciones subclínicas al desaparecer esta enfermedad en nuestro país, por todo ello, la probabilidad de poseer anticuerpos debe disminuir progresivamente con la edad.

Una respuesta de larga duración inducida por la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC® pudiera explicar los niveles de anticuerpos contra las PME y el PSC (11, 12), aunque no puede descartarse la inmunidad natural en portadores de *Neisseria meningitidis*. Sin embargo, el meningococo C no se ha aislado en Cuba en los últimos años (12, 13). La reactividad cruzada con el polisacárido capsular de la *Escherichia coli* K92 tampoco puede ser rechazada (9).

La fiebre tifoidea no es endémica en Cuba, y hasta el año 2000 se empleó en el programa de inmunización una vacuna de células completas, de elevada reactogenicidad e insuficiente inmunogenicidad. Una nueva vacuna de polisacárido Vi de *Salmonella* Typhi (vax-TyVi®) está introduciéndose paulatinamente en escolares cubanos a partir del año 2002 (14). Esta situación pudiera explicar la baja tasa de seroprotección en la población estudiada.

La placenta humana regula la transferencia de anticuerpos de forma selectiva. No hay un criterio unánime sobre el nivel de anticuerpos que se alcanza; algunos autores han reportado valores superiores en los recién nacidos, y otros iguales e incluso inferiores a los de sus madres (15, 16). En nuestra investigación, la mayor parte de los recién nacidos presentaron valores superiores, lo que habla a favor de una

excelente transferencia transplacentaria de anticuerpos contra las enfermedades prevenibles por las vacunas estudiadas, aunque en algunos casos no haya sido suficiente para conferir protección debido a los bajos niveles encontrados en sus progenitoras, por lo que, además del toxoide tetánico empleado en la inmunización de las gestantes, sugerimos añadir el toxoide diftérico, así como valorar otros inmunógenos vacunales.

Conclusiones

- La transferencia transplacentaria de anticuerpos es un mecanismo eficiente, su magnitud depende de los niveles de anticuerpos maternos.
- Algunos recién nacidos no están completamente protegidos contra las enfermedades prevenibles por las vacunas analizadas.

Referencias

1. Vicari M, Dodet B. Protection of newborns through maternal immunization. *Vaccine* 2003; 21:3351.
2. Vandelaer J, Birmingham M, Gasse F, Kurian M, Shaw C, Garnier S. Tetanus in developing countries: an update on the maternal and neonatal tetanus elimination initiative. *Vaccine* 2003; 21:3442-45.
3. Vitek CR, Diphtheria. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006;304:71-94.
4. Stephens DS. Conquering the meningococcus. *FEMS Microbiol Rev* 2007; 31:3-14.
5. Cooke FJ, Wain J. The emergence of antibiotic resistance in typhoid fever. *Travel Med Infect Dis* 2004; 2:67-74.
6. Ochoa R. Inmunoepidemiología y Estrategias de Vacunación. Ciudad de La Habana: Finlay Ediciones; 2005.
7. World Medical Association Declaration of Helsinki. Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *Bull World Health Organ* 2001;79(4):373-74.
8. Ochoa R, Ferriol X, Torres JC, Ginebra M, Céspedes A, Izquierdo L, et al. Evaluación simultánea de la inmunidad contra enfermedades prevenibles por vacunas. *Saludarte* 2005; 4(2):114-28.
9. Ochoa R. *Sistemas ELISA en ensayos clínicos de vacunas y estudios seroepidemiológicos*. Tesis presentada en opción al grado de Doctor en Ciencias Médicas. Ciudad de La Habana. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana; 2002.

10. Plikaytis BD, Carlone GM, Turner SH, Gheesling LL, Holder PF. Program ELISA [computer program] MS-DOS version. Centers for Disease Control. Atlanta (Ga); 1993.
11. Camaraza M, Martínez I, Ochoa R, Arnet A, Sotolongo F, Hernández D, et al. Respuesta de anticuerpos inducidos por la vacuna antimeningocócica cubana VA-MENGOC-BC frente a la cepa de *Neisseria meningitidis* B:4:P1.19,15 en adolescentes después de 12 años de inmunizados. *VacciMonitor* 2006;15(3):1-4.
12. Camaraza M, Ochoa R, Arnet A, Sotolongo F, Martínez I, Cuevas I, et al. Inmunogenicidad inducida por la vacuna antimeningocócica VA-MENGOC-BC® contra la cepa de *N meningitidis* ATCC C11 en adolescentes después de 12 años de vacunados. *Rev Cubana Med Trop* 2004;56(1):26-30.
13. Martínez I, Sierra G, Núñez N, Jaquiedo L, Climent Y, Mirabal M. Caracterización de cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de portadores en Cuba durante 20 años. *Rev Cubana Med Trop*. [en línea]. Mayo-Agosto 2006 [citado 28 Agosto 2007]; 58(2). URL disponible en: http://www.scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602006000200005&lng=es&nrm=iso. ISSN 0375-0760.
14. Ochoa Azze RF, Martínez JC, Ginebra M, Ferriol X, Rodríguez V, Sotolongo FT. Immunogenicity of a new *Salmonella* Typhi Vi polysaccharide vaccine –vax-TyVi®– in Cuban school children and teenagers. *Vaccine* 2003; 21:2758-60.
15. Durbaca S. Anti tetanus and anti diphtheria immunity in newborns. *Roum Arch Microbiol Immunol* 1999;58:267-72.
16. Malek A. Ex vivo human placenta models: transport of immunoglobulin G and its subclasses. *Vaccine* 2003; 21:3362-4.

Evaluation of antibodies against vaccine-preventable diseases in mother–newborn pair in Havana City hospitals

Abstract

At birth, the immune system is still immature, that is why newborns are susceptible to infectious diseases. Nonetheless, newborns are partially protected by maternal antibodies. For that reason, transplacental transference of antibodies against some vaccine-preventable diseases. A prospective, randomized study was carried out in 96 mothers and their newborns. Serum samples were taken from the pregnant women before delivery in Havana City hospitals during 2004 and from the newborns in the delivery room. Immunoenzimatic assays were used for the quantitative determination of tetanus and diphtheria antitoxin, antibodies to meningococcus B outer membrane proteins (OMP), antibodies to meningococcus C capsular polysaccharide (CSP), and antibodies to Vi polysaccharide of *Salmonella* Typhi. Suitable levels of tetanus antitoxin were found in mothers and newborns. The long-term protection levels (>1 IU/mL) were shown in 92.71% of newborns, and 88.54% of their mothers. Non-reliable levels of diphtheria antitoxin (<0.1 IU/mL) were found in 54.17% and 45.83% of mothers and newborns, respectively. Antibodies to OMP above 2 μ g/mL were detected in 90.63% and 96.88% of mothers and newborns, and the 38.54% and 41.67% had proper antibodies against CSP. Seroprotection rates (>1 μ g/mL) against *Salmonella* Typhi were 5.21% and 8.33%, respectively. Most of newborns showed higher antibody levels than that of their mothers, therefore the transplacental passage of antibodies is an efficient mechanism.

Keywords: Transplacental antibodies, vaccine, tetanus antitoxin, diphtheria antitoxin, meningococcus, *Salmonella* Typhi.

Recibido: Junio de 2007 Aprobado: Agosto de 2007