

(Artículo Original)

Caracterización de cepas de *Neisseria meningitidis* causantes de enfermedad invasiva en Cuba

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí"

Nirtza Suárez Navarro¹, Isabel Martínez Motas², Onelkis Feliano Sarmiento³, Oderay Gutiérrez⁴, María Julia Valdés Hernández⁵, Isabel Villalusa Pérez⁶, Rafael LLanes Caballero⁷.

¹Médico Especialista de 1er. Grado en Microbiología y Medicina General Integral, Máster en Ciencias, Hospital Pediátrico William Soler. ²Médico Especialista de 2do. Grado en Microbiología, Doctor en Ciencias Médicas, Profesor e Investigador Titular, ELAM. ³Licenciada en Bioquímica, Máster en Ciencias, Profesor Instructor, IPK. ⁴Licenciada en Tecnología de la Salud Perfil Microbiología. ⁵Médico Especialista de 1er. Grado en Microbiología, Máster en Ciencias, Profesor Auxiliar, ELAM. ⁶Médico Especialista de 1er. Grado en Microbiología y Medicina General Integral, Máster en Ciencias, Profesor Auxiliar, ELAM. ⁷Médico Especialista de 2do. Grado en Microbiología, Máster en Ciencias, Profesor e Investigador Auxiliar, IPK.

RESUMEN

Objetivo: Caracterizar las cepas de *Neisseria meningitidis* aisladas de procesos invasivos en Cuba, durante 10 años.

Método: Estudio transversal descriptivo de los aislamientos de *N. meningitidis* remitidos al Laboratorio Nacional de Referencia de Neisserias Patógenas del Instituto "Pedro Kourí" durante 2002-2011. Se recibieron 136 cepas de las cuales 69 fueron viables. La identificación y serogrupación se realizó por métodos convencionales, cuando el serogrupo fue dudoso se confirmó mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa. Los serosubtipos se identificaron por el método de ELISA de células enteras con anticuerpos monoclonales. La susceptibilidad antimicrobiana se realizó por E-test.

Resultados: Predominó el serogrupo B (98,6%), un aislamiento fue C (1,4%). Predominaron los serotipos 4 (55,1%), las cepas no tipables (15,9%) y el 2a (8,7%). Los subtipos más frecuentes fueron: P1.15 (42,0%), P1.19 (20,3%) y las cepas no subtipables (10,1%). El fenotipo predominante fue B:4:P1.15 (26,1%) y se detectó por primera vez en Cuba la asociación C:2a:P1.5 (1,4%). Prevalcieron las cepas sensibles a los antimicrobianos probados, excepto para el cotrimoxazol cuya resistencia fue elevada (92,8%). También se encontró resistencia para la ciprofloxacina (10,7%), la penicilina (8,9%) y el cloranfenicol (5,3%).

Conclusiones: Predominó el fenotipo B:4:P1.15 de *Neisseria meningitidis* lo cual confirma su persistencia en Cuba. La detección por primera vez del fenotipo C:2a:P1.5 ratifica la necesidad de mantener la caracterización de las cepas como un sistema de alerta ante el incremento de un determinado perfil antigénico. El predominio de cepas sensibles a la penicilina sugiere la vigencia de dicho fármaco para el tratamiento de la enfermedad meningocócica en Cuba, aunque el hallazgo de cepas resistentes a este y otros antimicrobianos remarcan la necesidad de continuar la vigilancia en este sentido.

Palabras clave: *Neisseria meningitidis*; Epidemiología; Meningitis Meningocócica.

INTRODUCCIÓN

Neisseria meningitidis es uno de los principales agentes causales de meningitis bacteriana y sepsis a nivel mundial. Este microorganismo es un patógeno exclusivo del humano, coloniza la nasofaringe y puede formar parte de la microbiota normal sin producir síntomas ni signos clínicos evidentes de infección. La enfermedad meningocócica (EM), ocasionada por *N. meningitidis*, se ubica entre las 10 principales de origen infeccioso y se distingue por su carácter epidémico; se estima que ocurren alrededor de 1 millón 200 mil casos invasivos y 135 mil decesos, con una mortalidad global de 10%. En América Latina, no-

tifican alrededor de 5 mil casos anuales de los cuales 14% termina en muertes prematuras (1, 2).

Por sus características epidemiológicas, la gravedad de sus manifestaciones clínicas, y la alarma social que origina en la comunidad, la notificación de los casos requiere de una vigilancia constante por parte del personal de salud pública, pues la introducción de vacunas puede modificar la dinámica de esta enfermedad (2).

La caracterización fenotípica sobre la base de los marcadores epidemiológicos (serogrupo, serotipo, subtipo e inmunotipo) de las cepas circulantes, constituye un objetivo fundamental en las investigaciones sobre el tema (3). Las diferencias antigénicas del polisacárido capsular (PC) per-

mite clasificar a *N. meningitidis* en 13 serogrupos (A, B, C, H, I, K, L, M, X, Y, Z, 29E y W-135), aunque cinco (A, B, C, Y y W-135) causan cerca de 90% de los casos invasivos (1-3). Por otra parte, el desarrollo alcanzado por la epidemiología molecular, permite detectar las diferencias genéticas existentes entre las cepas circulantes e incrementa la información que ofrecen los métodos fenotípicos (4).

A diferencia de lo que sucede actualmente con otros microorganismos, *N. meningitidis* no muestra altos índices de resistencia a los antimicrobianos. No obstante, se mantiene el predominio de cepas resistentes a las sulfamidas y aumenta la notificación de aislamientos con sensibilidad intermedia a la penicilina (uno de los fármacos de elección para el tratamiento de la EM), así como la sensibilidad intermedia y la resistencia a otros fármacos (5).

La aplicación en 1989 de la vacuna antimeningocócica cubana (VA-MENGOC-BC®) contra los serogrupos B y C, y su incorporación en 1991 al Programa Nacional de Inmunizaciones, juega un papel decisivo en la reducción de la incidencia de la EM en Cuba. La aplicación sistemática y mantenida de VA-MENGOC-BC® logra el control de esta enfermedad en el país hasta nuestros días (6).

Los nuevos retos planteados para el control de la EM invasiva ponen de relieve el papel básico de los laboratorios y cómo la Microbiología desempeña un papel fundamental en la salud pública para la toma de decisiones. El diagnóstico y la caracterización de cepas de *N. meningitidis* aisladas de enfermos y portadores, junto con los estudios de resistencia antimicrobiana, aportan una valiosa información al conocimiento de la dinámica de la EM en todo el mundo (7).

El presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar las cepas de *N. meningitidis* aisladas de procesos invasivos en Cuba y que fueron remitidas al Laboratorio Nacional de Referencia de Neisserias Patógenas (LNRNP) del Instituto "Pedro Kourí" (IPK) durante un período de 10 años (2002-2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo de corte transversal realizado en el marco de la vigilancia microbiológica pasiva de *N. meningitidis* por el LNRNP del IPK, que incluyó la caracterización de los aislamientos obtenidos a partir de muestras clínicas de pacientes con procesos invasivos durante el periodo 2002-2012. Las cepas se remitieron por los Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) de las 14 provincias y el municipio especial Isla de la Juventud de Cuba. El universo incluyó 136 aislamientos del microorganismo, de los cuales, 67 fueron no viables, por lo que la muestra analizada abarcó 69 cepas.

El análisis se realizó en dos etapas, la primera incluyó la caracterización fenotípica (identificación de serogrupos, serotipos y subtipos), y en la segunda, se realizó el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana, en este caso, a 56 cepas que conservaron su viabilidad inicial.

Las cepas se remitieron desde los CPHEM en un medio

de conservación y transporte (cuñas de agar Chocolate) y su procesamiento se realizó acorde con los métodos convencionales establecidos para este microorganismo (8). Los aislamientos se sembraron en placas de agar Mueller-Hinton, enriquecido con suplemento Vitox (Oxoid) y una mezcla de inhibidores compuesto por vancomicina (3 µg/mL), colistina (750 µg/mL) y nistatina (1 250 µg/mL). Las placas inoculadas se incubaron a 37 °C durante 18 a 24 horas en una atmósfera húmeda con 5-10% de CO₂. Los aislamientos confirmados como *N. meningitidis* se conservaron a -80 °C en caldo Triptona Soya más glicerol al 20%, para su posterior caracterización.

A todos los cultivos se les realizó tinción de Gram, determinación de la producción de enzimas citocromo-oxidasa y catalasa, la actividad γ-glutamyl-aminopeptidasa y la utilización de diferentes carbohidratos (glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa) (8).

La identificación de los serogrupos se hizo por aglutinación en láminas portaobjetos con antisueros comerciales (polivalentes y monovalentes), para los serogrupos A, B, C, W135, 29E, X, Y y Z (Difco) y por aglutinación con partículas de Látex (Wellcogen®). En aquellos aislamientos cuya reacción de aglutinación fue dudosa, se confirmó el serogrupo mediante un PCR cualitativo a partir del ADN obtenido por el sistema comercial Wizard Genomic DNA purification (Promega).

Los serotipos y subtipos se determinaron por ensayo inmunoenzimático (ELISA) de células enteras con anticuerpos monoclonales (AcM), según el protocolo descrito por Abdillahi y Poolman (9). Se utilizó un panel comercial de AcM, del Instituto Nacional para Control Biológico y Estándares del Reino Unido (NIBSC, por sus siglas en inglés). Se utilizaron los siguientes AcM de los serotipos: MN3C6B (1), MN2D3F (2a), MN2C3B (2b), MN14G21 (4), MN5C8C (14), 6B11-E2-B5 (21) y subtipos: MN14C2.3 (P1.1), MN-16C13F4 (P1.2), MN20B9.34 (P1.4), MN22A9.19 (P1.5), MN19D6.13 (P1.6), MN14C11.6 (P1.7), MN5A10F (P1.9), MN20F4.17 (P1.10), MN24H10.75 (P1.12), MN24H10.75 (P1.13), MN3C5C (P.15), MN5C11G (P1.16), 8B5-5-G9 (P1.19).

Durante la realización de los diferentes métodos de caracterización aplicados, se incluyeron cepas patrones pertenecientes a la colección de cultivos del IPK y la cepa vacunal cubana de *N. meningitidis* B (385/83) del Departamento de Colecciones de Cultivo del Instituto Finlay de Cuba.

La susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante tiras de E-test. Se investigaron los siguientes fármacos: penicilina G, ceftriaxona, cloranfenicol, rifampicina, cotrimoxazol y ciprofloxacina. Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se siguieron las recomendaciones del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, del inglés Clinical and Laboratory Standards Institute) (10). Se asumió como CMI el punto donde la elipse de crecimiento bacteriano interceptó la escala de la tira. Siempre se leyó el punto donde hubo una completa inhibición del crecimiento, incluyendo el desarrollo difuso y las colonias aisladas. Se emplearon las categorías de sensible,

intermedio y resistente, según los rangos descritos por el CLSI (10).

A los aislamientos identificados como resistentes a la penicilina se les determinó la actividad de la enzima β-lactamasa, mediante el método de la Nitrocefina Cromógena, siguiendo las indicaciones del fabricante (Oxoid).

Los resultados obtenidos se introdujeron en una base de datos creada en Microsoft Excel 2007. Se calcularon las frecuencias absolutas y relativas de las variables investigadas.

Requerimientos éticos: Se cumplieron las regulaciones éticas descritas para este tipo de estudio. La información obtenida en el LNRNP-IPK fue utilizada solo con los fines previstos en la investigación y se mantuvo la debida privacidad de los datos de los pacientes.

RESULTADOS

De los 136 aislamientos de *N. meningitidis* recibidos en el LNRNP-IPK 53,7% correspondió a la región central del país, y las provincias con los mayores porcentajes fueron: Villa Clara (26,5%), Cienfuegos (8,8%) y Camagüey (8,8%). En el occidente se destacaron Ciudad de La Habana (actualmente La Habana) y Matanzas, con 11,0 y 9,6%, respectivamente (tabla 1).

Un total de 122 (90%) cepas se obtuvieron a partir del cultivo del líquido cefalorraquídeo (LCR), 12 (9%) de hemocultivos y 2 (1%) se aislaron de petequias.

En las 69 cepas caracterizadas se encontró un franco predominio del serogrupo B (98,6%) y un aislamiento del C (1,4%). Las siete cepas a las que se les realizó PCR pertenecieron al serogrupo B. Se observó predominio del se-

Tabla 1. Distribución de las cepas de *N. meningitidis* por las diferentes provincias de Cuba

Provincias de Cuba	n	%
Pinar del Río	5	3,7
La Habana	1	0,7
Ciudad de La Habana	15	11,0
Matanzas	13	9,6
Cienfuegos	12	8,8
Villa Clara	36	26,5
Sancti Spíritus	6	4,4
Ciego de Ávila	7	5,1
Camagüey	12	8,8
Las Tunas	5	3,7
Granma	7	5,1
Holguín	6	4,4
Santiago de Cuba	8	5,9
Guantánamo	2	1,5
Isla de la Juventud	1	0,7
Total	136	100,0

Nota: Dado el período de estudio se adoptó la distribución política administrativa vigente en el país hasta el año 2011.

Tabla 2. Marcadores epidemiológicos de *N. meningitidis* identificados durante el período investigado

Marcadores epidemiológicos	Clasificación	n	%
Serogrupos	B	68	98,6
	C	1	1,4
Serotipos	4	38	55,1
	NT	11	15,9
	2a	6	8,7
	7	5	7,2
	17	2	2,9
	4,15	2	2,9
	4,7	2	2,9
	15	1	1,4
	21	1	1,4
	7,17	1	1,4
Subtipos	P1.15	29	42,0
	P1.19	14	20,3
	P1.NST	7	10,1
	P1.5	6	8,7
	P1.4	3	4,3
	P1.2	2	2,9
	P1.4.19	2	2,9
	P1.9	2	2,9
	P1.1	1	1,4
	P1.19.15	1	1,4
	P1.15.16	1	1,4
	P1.9.15	1	1,4

rotipo 4 (55,1%), seguido por las cepas no tipables (NT) (15,9%) y el serotipo 2a (8,7%). Los serotipos 15, 21 y 7,17 se identificaron en un aislamiento (1,4%). Los subtipos mostraron mayor diversidad con predominio del P1.15 (42%) y P1.19 (20,3%), seguidos de cepas no subtipables (NST) (10,1%). La asociación P1.19,15 se identificó en un aislamiento (1,4%) (tabla 2).

Predominaron los fenotipos: B:4:P1.15 (26,1%); B:4:P1.19 (18,9%); B:2a:P1.5 y B:7:P1.15, estos dos últimos con idéntico número de aislamientos (57,2%). Otros fenotipos mostraron porcentajes bajos, aunque se destaca el hallazgo del C:2a:P1.5 (1,4%) (tabla 3).

Prevalcieron las cepas sensibles a la mayoría de los fármacos investigados, aunque 92,8% fueron resistentes al cotrimoxazol, 10,7% a la ciprofloxacina, 8,9% a la penicilina y 5,3% al cloranfenicol (tabla 4). Ninguna de las cepas resistentes a la penicilina produjo enzimas β-lactamasas.

DISCUSIÓN

Luego de la introducción en Cuba de la vacuna VA-MEN-GOC-BC® disminuye de forma ostensible la notificación de los casos de EM, lo cual se refleja en el bajo número de aislamientos remitidos al LNRNP del IPK analizados en el presente trabajo. En la actualidad, la tasa de incidencia de la EM en el país es muy baja (0,1/100 000 habitantes), por debajo de la correspondiente a la etapa preepidémica (6, 11).

Tabla 3. Distribución de los fenotipos de *N. meningitidis* identificados durante el período investigado (2002-2011)

Fenotipos	n	%
B:4:P1.15	18	26,1
B:4:P1.19	13	18,9
B:2a:P1.5	5	7,2
B:7:P1.15	5	7,2
B:NT:P1.NST	4	5,8
B:NT:P1.15	3	4,4
B:4:P1.4,19	2	2,9
B:4:P1.9	2	2,9
B:NT:P1.2	2	2,9
B:4,7:P1.15	2	2,9
B:15:P1.4	1	1,4
B:17:P1.15	1	1,4
B:17:P1.15,16	1	1,4
B:21:P1.NST	1	1,4
B:4,15:P1.19	1	1,4
B:4,15:P1.4	1	1,4
B:4:P1.NST	1	1,4
B:4:P1.19.15	1	1,4
B:4:P1.9.15	1	1,4
B:7,17:P1.NST	1	1,4
B:NT:P1.1	1	1,4
B:NT:P1.4	1	1,4
C:2a:P1.5	1	1,4
Total	69	100,0

En correspondencia con los resultados obtenidos, otros autores señalan a Villa Clara, Cienfuegos y La Habana entre las provincias con las tasas más altas de meningitis bacteriana durante la década 1998-2007, aunque incluyen también a Guantánamo (6), que remitió un número muy limitado de cepas al LNRNP-IPK en los 10 años investigados. Este comportamiento se vincula con las características geográficas del país. Por ser Cuba una isla larga y estrecha, las provincias de la región central reciben una mayor radiación solar y muestran diversa variabilidad climática, condiciones que pueden influir en una mayor incidencia de casos (6). El descenso en la remisión de cepas pudiera vincularse también con un diagnóstico microbiológico menos fortalecido por los laboratorios que integran la red de salud. En la recuperación de las cepas de *N. meningitidis* influyen de manera significativa los aspectos relacionados con la calidad y el procesamiento de las muestras, las dificultades en la conservación y el transporte de las cepas, así como con la administración previa de antimicrobianos en los pacientes (6).

La frecuencia de circulación del serogrupo B aumenta a partir de la década de los años 90 en diferentes regiones del mundo, se notifican brotes y epidemias en Cuba, Estados Unidos, Brasil, Chile, Argentina y Uruguay. Los sero-

grupos B y C predominan en Europa, Oceanía y América Latina; en Asia son más frecuentes los serogrupos A, B y C; y en África predominan el A, C, W135 y X (1, 2, 6, 12). Entre 2006 y 2010, en 4 735 aislamientos de *N. meningitidis* notificados por 19 países latinoamericanos y caribeños, predomina el serogrupo C en Brasil y el Cono Sur; mientras que en México, Centro América y el Caribe circulan los serogrupos B, C y Y (12, 13).

El amplio predominio de circulación del serogrupo B encontrado en este estudio se corresponde con los hallazgos de Climent y colaboradores (96,6%) (4) e informes procedentes de Europa (14).

Aunque en este trabajo solo se encontró una cepa perteneciente al serogrupo C, este es un importante agente causal de EM en otros países (1, 2, 12, 13, 15). En la actualidad, su hallazgo en Cuba pudiera considerarse una señal de alerta epidemiológica, ya que su anterior notificación corresponde a aislamientos identificados entre 1983 y 1989, etapa anterior a la aplicación de la vacuna antimeningocócica cubana. La baja frecuencia del serogrupo C pudiera asociarse con la aplicación sostenida de VA-MEN-GOC-BC® desde 1989 (4, 6). Esta vacuna demuestra su seguridad y efectividad para controlar brotes de EM causados por *N. meningitidis* de los serogrupos B y C en Cuba y otros países (16).

Similar a lo encontrado en este estudio, otros investigadores informan el predominio del serotipo 4. Martínez y colaboradores (17), lo describen durante la etapa epidémica y posepidémica de la EM (85,66 y 88,0%, respectivamente), al igual que Climent y colaboradores (93,8%) (4). De forma similar el serotipo 4 se notifica también en Nueva Zelanda (14) y España (7, 18). No obstante, no se encontró circulación del serotipo 2b y la detección del 15 fue baja, ambos entre los más identificados en Argentina (19). El serotipo 15 se asocia también con 69% de los casos notificados en un brote de EM producido por cepas del serogrupo B, ocurrido en Oregón, Estados Unidos (20).

Es importante destacar la presencia del serotipo 2a en la cepa correspondiente al serogrupo C, no descrito antes en Cuba (4, 6, 17, 21). Mientras que en Argentina, entre los aislamientos del serogrupo C predomina el serotipo 2b (19).

Se observó un predominio del fenotipo B:4:P1.15 (la misma asociación de la cepa tipo vacunal cubana). Este es

Tabla 4. Susceptibilidad antimicrobiana detectada en las cepas de *N. meningitidis* investigadas

Antimicrobiano	Sensible n (%)	Intermedio n (%)	Resistente n (%)
Penicilina	49 (87,5)	2 (3,6)	5 (8,9)
Ceftriaxona	56 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Cloranfenicol	52 (92,8)	1 (1,8)	3 (5,3)
Rifampicina	55 (98,2)	1 (1,8)	0 (0,0)
Ciprofloxacina	50 (89,3)	0 (0,0)	6 (10,7)
Cotrimoxazol	3 (5,4)	1 (1,8)	52 (92,8)

el de mayor prevalencia en el país (4, 6, 17, 21), se detecta también en los Estados Unidos (20), Uruguay (22) y España (23). No obstante, el fenotipo B:2a:P1.5 no se ha descrito antes en Cuba (4, 6, 17, 21). Esta asociación fenotípica emerge en España tras una epidemia ocasionada por cepas C:2b:P1.5,2, que obliga a la inmunización con la vacuna polisacáridica A-C en las Comunidades Autónomas. La situación existente hizo pensar en un posible evento de modificación capsular (*switching*), suceso que ocurre después de la aplicación de programas masivos de vacunación, capaz de provocar una protección serogrupo específica (24). El fenotipo C:2a:P1.5 detectado en este trabajo, se informa también en varias regiones del mundo y se asocia con clones hipervirulentos (1, 2, 7, 25).

N. meningitidis no está catalogado como un microorganismo capaz de desarrollar mecanismos eficientes de resistencia a los antimicrobianos tal y como se aprecia en otras especies pertenecientes, incluso, al mismo género. Excepto la resistencia a las sulfonamidas presente en más de 25% de las cepas, *N. meningitidis* mantiene en sentido general una buena sensibilidad frente a los fármacos utilizados para el tratamiento y la quimioprofilaxis de la EM (5). No obstante, en los últimos años se aprecia cierta disminución de la susceptibilidad a la penicilina y otros antibacterianos (27).

Aunque en este trabajo predominaron las cepas sensibles a la penicilina, se identificaron algunas intermedias y resistentes. Otros autores en Cuba identifican una situación similar, aunque no encuentran resistencia (28). Gabastou y colaboradores, en cepas procedentes de América Latina y el Caribe, al analizar la susceptibilidad a la penicilina detectan 65,7% de cepas sensibles, 34,1% con sensibilidad intermedia y 0,2% resistentes (26). Cepas resistentes a la penicilina no están descritas con anterioridad en Cuba (28), sin embargo, la resistencia para el fármaco identificada en este trabajo pudiera estar relacionada con la aplicación del nuevo punto de corte (CMI \geq 0,5 μ g/mL) recomendado por el CLSI (10).

La sensibilidad frente al cloranfenicol fue también alta. Sin embargo, por sus efectos adversos y la aparición de cepas resistentes en Francia y Vietnam (CMI > 64mg/L), debido a la producción de una enzima acetiltransferasa capaz de inactivar dicho antimicrobiano, algunos países desarrollados no lo recomiendan e inclusive alertan sobre la posible

emergencia de la expansión de cepas con características similares. No obstante, desde el punto de vista económico, podría constituir una buena alternativa de tratamiento dado el alto costo de la ceftriaxona, medicamento de elección y para el cual la bacteria muestra una amplia sensibilidad sin que aun se notifique resistencia en el mundo. En España, el cloranfenicol constituye una opción para los pacientes alérgicos a los β -lactámicos (5, 27, 29).

La ciprofloxacina también podría constituir una buena alternativa como quimioprofiláctico dada la amplia sensibilidad detectada; no obstante, similar a lo encontrado en este trabajo, otros estudios (13, 28) informan cepas resistentes y con sensibilidad intermedia. El excesivo empleo de las quinolonas para el tratamiento de infecciones de la comunidad, pudiera significar una fuerte presión selectiva para el desarrollo de la resistencia (28).

En estos momentos, aunque las sulfonamidas no se utilizan para el tratamiento ni la profilaxis de la EM, el análisis del comportamiento de las cepas frente al fármaco aporta datos epidemiológicos importantes. Se documenta que las cepas invasivas y epidemiogénicas muestran altos porcentajes de resistencia a las sulfonamidas, cuyos rangos oscilan desde 6,35 hasta 100% (27).

CONCLUSIONES

En las muestras investigadas predominó el fenotipo B:4:P1.15 de *Neisseria meningitidis* lo cual confirma su persistencia en Cuba. La detección por primera vez del fenotipo C:2a:P1.5 ratifica la necesidad de mantener la caracterización de las cepas como un sistema de alerta ante el incremento de un determinado perfil antigénico. El predominio de cepas sensibles a la penicilina sugiere la vigencia de dicho fármaco para el tratamiento de la enfermedad meningocócica en Cuba, aunque el hallazgo de cepas resistentes a este y otros antimicrobianos remarcan la necesidad de continuar la vigilancia en este sentido. Los resultados obtenidos garantizan una información microbiológica-epidemiológica oportuna de las cepas circulantes, aporta datos de valor a la prevención y control exitoso de la enfermedad meningocócica y demuestra el impacto y la vigencia de la inmunización con VA-MENGOC-BC®.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roupael NG, Stephens DS. *Neisseria meningitidis: biology, microbiology and epidemiology*. *Methods Mol Biol*. 2012;799:1-20
2. Campsall PA, Laupland KB, Niven DJ. *Severe meningococcal infection: a review of epidemiology, diagnosis, and management*. *Crit Care Clin*. 2013;29(3):393-409.
3. 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.
4. Climent Y, Urwin R, Yero D, Martínez I, Martín A, Sotolongo F et al. *The genetic structure of Neisseria meningitidis populations in Cuba before and after the introduction of a serogroup BC vaccine*. *Infect Genet Evol*. 2010;10(4):546-54.
5. Vázquez J, Enríquez R, Abad R, Alcalá B, Salcedo C, Areaza L. *Antibiotic resistant meningococci in Europe: any need to act?* *FEMS Microbiol Rev*. 2007;31:64-70.
6. Pérez AE, Dickinson FO, Rodríguez M. *Community acquired bacterial meningitis in Cuba: a follow up of a decade*. *BMC Infectious Diseases*. 2010;10:130.

7. Abad R, Vázquez J. Microbiología y salud pública: nuevos retos en vigilancia y control de la enfermedad meningocócica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(2):53- 55.
8. 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. p. 585-608.
9. Abdillahi H, Poolman JT. Whole-cell ELISA for typing *Neisseria meningitidis* with monoclonal antibodies. *FEMS Microbiol Lett*. 1987;48:367-71.
10. CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twentieth Informational Supplement*. CLSI document M 100-S20. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
11. Anuario Estadístico 2011. Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud. La Habana, abril 2012.
12. López E y Debbag R. Enfermedad meningocócica: siempre presente. Cambios en los serogrupos en el Cono Sur. *Rev Chilena Infectol*. 2012;29(6):587-594.
13. Ibarz-Pavón AB, Lemos AP, Gorla MC, Regueira M, SIREVA II Working Group, Jean-Marc Gabastou. Laboratory-Based Surveillance of *Neisseria meningitidis* Isolates from Disease Cases in Latin American and Caribbean Countries, SIREVA II 2006-2010. *PLoS ONE*. 2012;7(8):e44102. doi:0.1371/journal.pone.0044102.
14. Oster P, Lennon D, O'Hallahan J, Mulholland K, Reid S, Martin D. Immunogenicity. MeNZB: a safe and highly immunogenic tailor-made vaccine against the New Zealand *Neisseria meningitidis* serogroup B disease epidemic strain. *Vaccine* 2005;23:2191-6.
15. Barroso DE, Castiñeiras TM, Freitas FS, Marsh JW, Krauland MG, Tulenko MM, et al. Three Outbreak-causing *Neisseria meningitidis* Serogroup C Clones, Brazil (1) *Emerg Infect Dis*. 2013;19(11). doi:10.3201/13-0610.
16. Sotolongo F, Campa C, Casanueva GV, Fajardo EM, Cuevas I, González N. Cuban Meningococcal BC Vaccine: Experiences & Contributions from 20 Years of Application. *MEDICC Review*. 2007;9:6-22.
17. Martínez I, Sierra G, Núñez N, Izquierdo L, Climen Y, Mirabal M. Caracterización fenotípica de cepas invasivas de *Neisseria meningitidis* aisladas en Cuba durante 20 años *VacciMonitor*. 2006;Año 15, No. 1.
18. Vázquez J. Situación actual de la epidemiología de la enfermedad meningocócica. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24(1):14-8.
19. Chiavetta L, Ruzic A, Mollerach M, Regueira M. Vigilancia de *Neisseria meningitidis* en Argentina, 1993-2005: distribución de serogrupos, serotipos y sero/ subtipos causantes de enfermedad invasiva. *Rev Argentina Microbiología*. 2007;39:21-27.
20. 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.
21. Rodríguez M, Antonio Pérez A, Llanes R, Félix Dickinson F, Cuevas IE, Pérez K. Características epidemiológicas y microbiológicas en casos confirmados de enfermedad meningocócica en Cuba, 1998-2007. *VacciMonitor*. 2013;22(2):1-8.
22. Pírez GM, Picón MT, Galazka CT, Quiñan 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.
23. González de Aledo, Viloria L. Serosubtipos de meningococo B causantes de enfermedad invasiva en Cantabria y concordancia con la cepa de la vacuna cubana. *Gac Sanit*. 2004;8(1):45-9.
24. Castilla S, Vázquez J, Salcedo C, García M, García J, Irure J, Torroba L, et al. B: 2a:P1.5 Meningococcal Strains Likely Arise from Capsularwitching Event Still Spreading in Spain. *JCM*. 2009;47(2):463-65.
25. Chang Q, Tzeng YL, Stephens DS. Meningococcal disease: changes in epidemiology and prevention. *Clin Epidemiol*. 2012;4:237-45.
26. Gabastou JM, Agudelo CI, Brandileone MCC, Castañeda E, Lemos APS, Di Fabio JL et al. Caracterización de aislamientos invasivos de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis* en América Latina y el Caribe. SIREVA II, 2000-2005. *Rev Panam Salud Pública*. 2008;24(1):1-15.
27. Vázquez JA. The resistance of *Neisseria meningitidis* to the antimicrobial agents: an issue still in evolution. *Rev Med Microbiol*. 2001;12:39-45.
28. Sosa J, Llanes R, Guzmán D, Quintana I, Flores M, Gutiérrez O. Typing and susceptibility to penicillin of *Neisseria meningitidis* isolated from patients in Cuba (1993-1999). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2001;96(4):523-5.
29. Antignac A, Ducos-Galand M, Guiyole 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.
30. Thuling S, Fredlund H, Nicolas P, Caugant D, Olcén P, Unemo M. Antibiotic Susceptibility and Characteristics of *Neisseria meningitidis* Isolates from the African Meningitis Belt, 2000 to 2006: Phenotypic and Genotypic Perspectives. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009;53(4):1561-1566.

Characterization of *Neisseria meningitidis* strains causing invasive diseases in Cuba**SUMMARY**

Objective: To characterize the strains of *Neisseria meningitidis* insulated from invasive processes in Cuba, for the period of 10 years.

Method: Transverse descriptive study of the insulation of *N. meningitidis* referred to the National Reference Laboratory of Pathogen Neisserias of "Pedro Kuri" institute from 2002 to 2011. 68 of the 136 strains collected were feasible. The identification and serogrouping was made by conventional methods. When suspicious, the serogroup was confirmed through chain reaction of polymerase. The serosubtypes were identified by the ELISA method of whole cells with monoclonal antibodies. The antimicrobial susceptibility was performed by E-test.

Results: The serogroup B (98,6%) predominated, an insulation was C (1,4%). Serotypes 4 (55,1%) prevailed. The untyping strains (15,9%) and the 2^a (8,7%). The most frequent subtypes were: P1.15 (42,0%), P1.19 (20,3%) and the untyping strains (10,1%). The prevalent phenotype was B: 4:P1.15 (26,1%) and the association C:2^a:P1.5 (1,4%) was detected for the first time in Cuba. The sensitive strains prevailed over the prove antimicrobials, except for the cotrimoxazol whose resistance was high (92, 8%). Also resistance to the ciprofloxacin was found (10, 7%), the penicillin (8,9%) and the chloramphenicol (5,3%).

Conclusions: The phenotype B: 4:P1.15 of *Neisseria meningitidis* predominated confirming its persistence in Cuba. The phenotype C: 2^a:P1.5 detection for the first time supports the need of maintaining the characterization of the strains as an alert system facing the increase of a given antigenic profile. The prevalence of strains sensitive to penicillin suggests this medicine validity for the treatment of meningococcus in Cuba, although detecting resistant strains to it and to other antimicrobials emphasize the necessity to continue surveillance on this respect.

Key words: *Neisseria meningitidis*; Epidemiology; Meningitis, Meningococcal.

Dirección para la correspondencia: Dra. Nirtza Suárez Navarro. Calle otero 80 c
Mirador del Diezmero. San Miguel del Padron

Correo electrónico: nitzzaes@infomed.sld.cu