



ORIGINAL

Neisseria meningitidis aislada de muestras de hombres que tienen sexo con hombres



Susana D. García^{a,*}, Cecilia Sorhuet-Pereira^b, Beatriz E. Perazzi^a,
Mirta E. Losada^a, Gabriela Cabellos Astorga^a, Ricardo H. Casco^c,
Carlos A. Vay^a, Marta E. Mollerach^{b,d} y Ángela M.R. Famiglietti^a

^a Cátedra de Microbiología Clínica, Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

^b Cátedra de Microbiología, Departamento de Microbiología, Inmunología y Genética, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

^c Programa de ETS, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

^d CONICET, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 29 de julio de 2018; aceptado el 11 de marzo de 2019

Disponible en Internet el 16 de octubre de 2019

PALABRAS CLAVE

Neisseria meningitidis;
Serogrupo;
Resistencia

Resumen En los períodos 2000-2004 y 2014-2015 se investigó la presencia de *Neisseria meningitidis* en 1.143 y 544 hombres que tienen sexo con hombres respectivamente, atendidos en el marco de un programa de enfermedades de transmisión sexual. Se determinó la prevalencia de este agente, su distribución en serogrupos y su sensibilidad a los antimicrobianos. Se obtuvieron hisopados faríngeos, rectales y uretrales, que se sembraron en medio selectivo Thayer Martin modificado. La identificación se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales y por espectrometría de masas (MALDI-TOF). En el segundo período estudiado, sobre 85 aislamientos procedentes de faringes se investigaron los serogrupos B, c, W e Y mediante PCR. Se determinó la CIM de penicilina, ceftriaxona, rifampicina, azitromicina y ciprofloxacina en 66 aislamientos obtenidos en el primer período y en 102 logrados en el segundo. La prevalencia de *N. meningitidis* fue del 17,8% en el primer período y del 28,1% en el segundo; este microorganismo se aisló más frecuentemente de fauces. Los serogrupos hallados fueron B (31,5%), Y (7,6%) y W (3,3%), con un 9,8% de aislamientos no capsulados; los restantes corresponderían a otros serogrupos. El 34,8% y el 63,7% de los aislados estudiados correspondientes al primer y segundo período, respectivamente, tuvieron sensibilidad intermedia a la penicilina, y un 11,8% de los evaluados en el segundo período fueron resistentes a dicho antibiótico. Todos los aislados estudiados fueron sensibles a ceftriaxona y a ciprofloxacina (excepto 3, con CIM entre 0,25 y 0,5 µg/ml), el 3% fueron resistentes a rifampicina y el 2% fueron no sensibles a azitromicina.

* Autora para correspondencia.

Correo electrónico: biosgarcia@yahoo.com.ar (S.D. García).

KEYWORDS

Neisseria meningitidis;
Serogroup;
Resistance

La portación de *N. meningitidis* en hombres que tienen sexo con hombres fue elevada y hubo un alto porcentaje de cepas no sensibles a penicilina. El serogrupo B fue prevalente.

© 2019 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

***Neisseria meningitidis* isolated from patients in men who have sex with men**

Abstract During the periods 2000-2004 and 2014-2015, *Neisseria meningitidis* was investigated in men who have sex with men, 1143 and 544 respectively, who consulted in the sexually-transmitted disease program. Prevalence, serogroup distribution and susceptibility to antibiotics were determined. Pharyngeal, rectal and urethral swabs were cultivated on selective Thayer-Martin modified medium. The identification was performed by biochemical tests and mass spectrometry by MALDI-TOF. Serogroups B, C, W and Y were investigated by PCR in 85 isolates recovered from the pharynx belonging to the second period. MICs of penicillin, ceftriaxone, rifampicin, azithromycin and ciprofloxacin were determined for 66 and 102 isolates from periods 1 and 2 respectively, according to CLSI. The prevalence of *N. meningitidis* was 17.8% and 28.1%, in periods 1 and 2 respectively; the isolates were mainly recovered from the pharynx. The distribution of serogroups was B 31.5%; Y 7.6%; W 3.3% and 9.8% non-capsulated and the rest would belong to other serogroups. Isolates classified as intermediate to penicillin were 34.8% and 63.7% (first and second periods, respectively); moreover, 11.8% of the isolates from the second period were resistant. All isolates were susceptible to ceftriaxone, to ciprofloxacin (except 3 isolates with MIC values between 0.25 and 0.5 µg/ml), 3% were resistant to rifampicin and 2% were not susceptible to azithromycin. The prevalence of *N. meningitidis* carriage in men who have sex with men was high with a high rate of penicillin non-susceptible isolates. B was the prevalent serogroup.

© 2019 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Neisseria meningitidis se considera un patógeno primario; este microorganismo causa infecciones graves como meningitis y meningococemia, con alta tasa de mortalidad, aunque en ocasiones coloniza la mucosa nasofaríngea de individuos sanos. Se lo ha aislado también de otras localizaciones, con baja frecuencia.

El reservorio natural de *N. meningitidis* es la nasofaringe humana, donde coloniza en forma asintomática y desde donde se disemina para causar la enfermedad meningocócica. La tasa de portación nasofaríngea suele ser menor del 5% en la población general, mientras que en poblaciones cerradas, como reclutas militares u hombres que tienen sexo con hombres (HSH), suele ser mayor^{3,8,12,18}.

Como antecedentes de la transmisión sexual de *N. meningitidis* se han comunicado casos de uretritis, proctitis, enfermedad inflamatoria pélvica y portación asintomática genitourinaria, faríngea y rectal^{13,14,18,20,21}. También se ha descrito la infección conjuntival primaria del neonato a partir de las secreciones vaginales maternas, en el momento del parto¹⁰. A diferencia de las infecciones invasivas, este tipo de infecciones no están precedidas por bacteriemia; sin embargo, se han comunicado brotes de meningitis en HSH, epidemiológicamente relacionados²⁴.

Lo expuesto con anterioridad señala a *N. meningitidis* como una bacteria que puede transmitirse sexualmente;

además indica que los hábitos sexuales pueden cambiar la ecología de este microorganismo y el tipo de infecciones. La alta prevalencia de portación entre los HSH podría constituir un foco para la diseminación de infecciones graves en la comunidad.

Al igual que *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis* es un diplococo gram negativo, oxidasa positivo, que requiere una atmósfera enriquecida con 5% de CO₂ para el aislamiento a partir de muestras clínicas. Desarrolla en medios nutritivos como agar sangre o agar chocolate y en medio selectivo Thayer Martin; este último es el medio que debe utilizarse para el cultivo de muestras en las que *N. meningitidis* coexiste con otras bacterias. Para su identificación es necesario utilizar pruebas diferenciales respecto de *N. gonorrhoeae* y microorganismos relacionados⁸.

Actualmente se dispone de paneles de identificación manual o automatizados y de la espectrometría de masas. Esta última técnica, a diferencia de los paneles, permite realizar rápidamente, en menos de 30 min, la identificación del microorganismo.

También se dispone en el comercio de métodos que permiten realizar el diagnóstico rápido a partir de la muestra clínica (por ej., de líquido cefalorraquídeo). Estos métodos se basan en reacciones inmunológicas con anticuerpos monoclonales fluorescentes, en pruebas de coagulación y en técnicas moleculares, como hibridación con sondas y pruebas de amplificación de ácidos nucleicos⁸.

Los meningococos patógenos tienen una cápsula formada por polisacáridos específicos, de acuerdo con estos se clasifican en 13 serogrupos: A, B, C, H, I, K, L, M, X, Y, Z, 29E y W135, actualmente denominado W. El 90% de las infecciones son causadas por los serogrupos A, B, C, W e Y. La identificación del serogrupo es de gran importancia epidemiológica. *N. meningitidis* se clasifica en 20 serotipos sobre la base de los antígenos de las proteínas de membrana externa de clase 2 y 3 o antígenos PorB, en 10 subtipos según los antígenos de la proteína de membrana externa de clase 1 o PorA, y en 13 inmunotipos según los antígenos polisacáridos⁸.

Actualmente se recomienda realizar la identificación de serogrupos mediante PCR con cebadores específicos para los genes capsulares, por su mayor especificidad^{5,19}.

Los objetivos de este estudio fueron determinar la prevalencia de *N. meningitidis* en aislamientos provenientes de diferentes localizaciones en HSH atendidos en 2 períodos y describir su distribución en serogrupos; también evaluar la sensibilidad de estos aislamientos a los antimicrobianos.

Materiales y métodos

En los períodos 2000-2004 y 2014-2015 se realizó la búsqueda de *N. meningitidis* en 1.143 y 544 HSH, respectivamente, que se atendieron en el marco de un programa de enfermedades de transmisión sexual. Las muestras estudiadas fueron hisopados faríngeos, rectales y uretrales, que se sembraron en medio selectivo Thayer Martin modificado e incubaron en atmósfera con 5% de CO₂ a 35 °C durante 48 h. La identificación bacteriana se realizó mediante pruebas bioquímicas convencionales: coloración de Gram; oxidasa; superóxido; pruebas de utilización de hidratos de carbono (con medio base CTA), incluyendo glucosa, maltosa, lactosa, sacarosa y fructosa; y detección de las enzimas γ -glutamil-aminopeptidasa y OH-prolil-aminopeptidasa.

Se determinó el espectro de masas de cada aislado bacteriano mediante el espectrómetro MALDI-TOF MS Bruker Daltonics (Alemania), empleando la base de datos de la versión Biotyper 3.0 y el software versión Biotyper 3.1, además de una base local integrada por espectros de masas de *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae* de una colección del Laboratorio Nacional de Referencia en Infecciones de Transmisión Sexual, INEI-ANLIS «Dr. Carlos G. Malbrán». Un score ≥ 2.000 se consideró aceptable para la identificación de especie y un score entre 1.700 y 1.900 aceptable para la identificación del género, teniendo en cuenta que debe haber una diferencia mayor del 10% entre los scores de las 2 primeras especies para que la identificación sea confiable⁴.

En el segundo período, se investigaron en 85 aislamientos procedentes de faringes los genes capsulares correspondientes a los serotipos B, C, W e Y con cebadores específicos de cada grupo, utilizando PCR¹⁹. Para aquellos aislamientos en los que no se detectaron genes capsulares se realizó una PCR para locus nulo (cni), la cual arroja resultado positivo en *N. meningitidis* no capsulada y en otras especies, como *N. gonorrhoeae* o *Neisseria lactamica*⁵.

En 66 aislamientos recuperados en el período 2000-2004 y 102 correspondientes al período 2014-2015, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de penicilina, ceftriaxona, rifampicina, azitromicina y ciprofloxacina por el método de dilución en agar, según el CLSI⁶.

Para la comparación de proporciones se utilizó la prueba de Chi cuadrado con la corrección de Yates, y se determinaron los intervalos de confianza (IC) para las prevalencias, con un nivel de significación $\alpha = 0,05$, con el programa Epidat 3.1.

Resultados

Los aislados fueron identificados como *N. meningitidis* por ser diplococos gram negativos, oxidasa positivos, superóxido negativos. Estos aislados utilizaron glucosa y maltosa, y fueron γ -glutamil-aminopeptidasa positivos y OH-prolil-aminopeptidasa negativos. La identificación por el perfil bioquímico coincidió con la obtenida por espectrometría de masas: un 95% de los aislamientos que por dichas técnicas se consideraron *N. meningitidis* arrojaron un score > 2.000 y el 5% restante dio un score entre 1.900 y 2.000.

Cabe destacar que, independientemente del valor del score obtenido, siempre se detectó una diferencia mayor del 10% entre *N. meningitidis* y las otras especies del género encontradas, como *N. gonorrhoeae*, *N. lactamica* y *Neisseria flavescens*.

En el período 2000-2004 se obtuvieron 204 aislamientos de *N. meningitidis* y la prevalencia fue del 17,8% (IC 95%: 15,6-20,1), mientras que en el período 2014-2015, el número de aislamientos obtenidos fue 153 y la prevalencia del 28,1% (IC 95%: 24,4- 32,1); esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

En función de la localización clínica, la distribución en el primer período fue la siguiente: de faringes, el 97%; de recto, el 2,5%; y de uretra, el 0,5%; mientras que en el segundo período las proporciones fueron del 98; 1,3 y 0,7%, respectivamente. Las localizaciones uretrales fueron sintomáticas, no así las rectales ni las faríngeas, que fueron asintomáticas.

En el segundo período, los serogrupos hallados fueron el B, con 29 aislamientos (31,5%), el Y, con 7 (7,6%) y el W, con 3 (3,3%). Nueve aislados (9,8%) fueron confirmados como no capsulados y los restantes pertenecerían a otros serogrupos.

La espectrometría de masas no resultó de utilidad para diferenciar los serotipos de *N. meningitidis*, en concordancia con lo descrito por otros autores⁴.

En la tabla 1 se muestran los resultados de CIM de 5 antimicrobianos. En el primer período, el 34,8% (23/66) de los aislamientos evaluados presentaron sensibilidad intermedia a penicilina (CIM = 0,125-0,25 $\mu\text{g/ml}$), mientras que en el segundo período esta proporción se elevó al 63,7% ($p < 0,05$) y hubo un 11,8% de aislados resistentes. En ambos períodos, todos los aislamientos analizados fueron sensibles a ceftriaxona (CIM $\leq 0,008 \mu\text{g/ml}$) y a los antimicrobianos utilizados en la profilaxis, como rifampicina (CIM $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$, excepto 2 aislamientos que mostraron una CIM = 1 $\mu\text{g/ml}$) y azitromicina (CIM $\leq 1 \mu\text{g/ml}$, excepto 2 casos que tuvieron una CIM = 4-8 $\mu\text{g/ml}$); además hubo 3 aislamientos resistentes a ciprofloxacina (CIM: 0,25-0,5 $\mu\text{g/ml}$).

Discusión

La frecuencia de *N. meningitidis* encontrada en las diferentes localizaciones es similar a la reportada por otros autores¹². Es importante considerar que, si bien la portación

Tabla 1 Sensibilidad de aislados de *N. meningitidis* recuperados de HSH en 2 períodos distintos frente a los antimicrobianos

ATB Período	CIM ($\mu\text{g/ml}$)			N (%)		
	Rango	50%	90%	S	I	R
<i>Penicilina</i>						
2000-2004	$\leq 0,032-0,25$	0,063	0,125	43 (65,2)	23 (34,8)	0
2014-2015	0,016-0,5	0,25	0,5	25 (24,5)	65 (63,7)	12 (11,8)
<i>Ceftriaxona</i>						
2000-2004	-	$\leq 0,008$	$\leq 0,008$	66 (100)	0	0
2014-2015	-	$\leq 0,008$	$\leq 0,008$	102 (100)	0	0
<i>Ciprofloxacina</i>						
2000-2004	-	$\leq 0,008$	$\leq 0,008$	66 (100)	0	0
2014-2015	$\leq 0,008-0,25$	$\leq 0,008$	$\leq 0,008$	99 (97,1)	0	3 (2,9)
<i>Rifampicina</i>						
2000-2004	$\leq 0,008-1$	0,032	0,25	64 (97)	2 (3)	0
2014-2015	$\leq 0,008-0,25$	0,032	0,25	102 (100)	0	0
<i>Azitromicina</i>						
2000-2004	ND	ND	ND	ND	ND	ND
2014-2015	0,016-8	0,5	2	100 (98)	0	2 (2) ^a

CIM: concentración inhibitoria mínima; S: sensible; I: sensibilidad intermedia; R: resistente; ND: no determinado.

^a No sensible.

orofaríngea del meningococo es la situación más frecuente, según los hábitos sexuales es posible aislarlo del recto y genitales, en convivencia con el gonococo, por lo que, desde el punto de vista epidemiológico, resulta indispensable recurrir a pruebas de identificación que permitan diferenciarlos.

La espectrometría de masas (MALDI-TOF) resultó una herramienta de utilidad para identificar a nivel de género y especie a *N. meningitidis*, y enfatizamos la importancia de este método por su rapidez y exactitud para la identificación microbiana.

La incidencia y epidemiología de la enfermedad meningocócica varía de acuerdo a la región geográfica. En este estudio prevaleció el serogrupo B.

Datos nacionales revelan que en el período 2001-2008 prevaleció el serogrupo B y se observó un incremento de los serogrupos W e Y². En 2010, la mayoría de los aislamientos fueron W (49%), y el serogrupo B fue el segundo en frecuencia²⁷.

De los 5 serogrupos (A, B, C, W e Y) responsables del 90% de las infecciones por *N. meningitidis*, los serogrupos A, B y C son los más frecuentes a nivel global, con los serogrupos A y C predominantes en Asia y África. Pero en los últimos años aumentó la prevalencia del serogrupo W en diversas áreas²³. A partir de 2000 se registraron brotes por W en varios países europeos, y más recientemente, en Suecia se observó un aumento significativo de su incidencia en enfermedades invasivas^{2,9,17}. También en África se observó un incremento del serogrupo W y su asociación con moderada resistencia a penicilina^{7,16}.

Si bien la portación faríngea de *N. meningitidis* es frecuente en la población de HSH, tal como lo describen otros autores, merece destacarse que un alto porcentaje de las cepas que circulan en nuestro medio presentan sensibilidad intermedia a penicilina²⁵. En Nigeria, el 80%

de los aislamientos de *N. meningitidis* fueron resistentes a penicilina y el 20% a cloranfenicol¹.

En Brasil, el 13% de los aislamientos de *N. meningitidis* presentaron sensibilidad reducida a penicilina, un 0,2% de los aislamientos fueron resistentes a rifampicina y el 0,5% presentó sensibilidad intermedia¹¹.

La resistencia a penicilina puede deberse a la producción de beta-lactamasas, por la alteración de las PBP (*penicillin binding proteins*), o a la impermeabilidad de la membrana externa al fármaco. El primer mecanismo es infrecuente en *N. meningitidis*, pero ha sido descrito en unos pocos casos y el nivel de resistencia es elevado⁸.

Nuestros resultados muestran un alto porcentaje de aislamientos con sensibilidad intermedia a penicilina (62,5%), valor superior al hallado en el primer período. Se han descrito ya aislamientos con sensibilidad intermedia a penicilina en Argentina, que se han asociado a falla de tratamiento^{26,27}. En otros países también se ha observado un aumento de este tipo de aislamientos: en Rumania, el 38,7% de los aislamientos mostraron sensibilidad intermedia a la penicilina y el 3,3% fueron resistentes²²; en Australia, 2/3 de los aislamientos de *N. meningitidis* presentaron sensibilidad intermedia a penicilina (Australian Surveillance Programme, 2009) y en Nigeria, la resistencia a penicilina en *N. meningitidis* fue del 80%. En Brasil, en cambio, solo un 13% de los aislamientos tuvieron sensibilidad intermedia^{1,11}. La sensibilidad intermedia a penicilina se asocia a los serogrupos C o B, pero también al W^{16,18}.

La profilaxis antibiótica no está recomendada en la portación orofaríngea de *N. meningitidis* en pacientes asintomáticos; sin embargo, está indicada en los contactos de pacientes que presentan enfermedades invasivas, para evitar casos secundarios.

De los antimicrobianos no beta-lactámicos que se utilizan para la profilaxis, la rifampicina, la ciprofloxacina y la

azitromicina mostraron bajos niveles de resistencia (menores o iguales al 3%). Si bien la proporción de aislamientos resistentes a la ciprofloxacina fue baja, esta quizá fue seleccionada por su amplio uso para el tratamiento de la gonorrea, particularmente en este grupo de pacientes. Dado que la ciprofloxacina es el antimicrobiano más utilizado para eliminar la portación de *N. meningitidis*, debería tenerse en cuenta la posibilidad de falla de erradicación¹⁵. En cambio, la rifampicina mostró buena actividad, sobre todo frente a los aislamientos obtenidos en el segundo período, ya que el 100% de los aislamientos estudiados fueron sensibles. En el primer período, el 3% de aquellos presentaron sensibilidad intermedia. En Brasil, un 0,2% de los aislamientos de *N. meningitidis* fueron resistentes a rifampicina y el 0,5% presentaron sensibilidad intermedia a dicho antimicrobiano¹¹. En Rumania, el 96,3% de los aislamientos fueron sensibles a rifampicina²².

Conclusiones

En nuestra población, la portación de *N. meningitidis* en HSH es elevada y el serogrupo B es el más frecuente. Todos los aislamientos presentaron sensibilidad a ceftriaxona, mientras que se observó un aumento significativo de la resistencia a la penicilina comparando el primer período estudiado con el segundo. La resistencia a rifampicina, azitromicina y ciprofloxacina fue baja.

Neisseria meningitidis aislada de pacientes en un programa de enfermedades de transmisión sexual

- Elevada prevalencia portación de *N. meningitidis* en hombres que tienen sexo con hombres
- Serogrupo prevalente: B (31,5%)
- Elevada resistencia a penicilina y sensibilidad a ceftriaxona (100%)
- Bajo porcentaje de resistencia a ciprofloxacina, rifampicina y azitromicina

Financiación

Este trabajo fue subsidiado mediante el Proyecto UBACYT 20020130100167BA de AMRF, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Conflicto de intereses

Ninguno.

Bibliografía

1. Alhai MA, Ahmed H, Femi OO. Changing pattern of antibiotic sensitivity of *Neisseria meningitidis* from children with meningococcal meningitis in North Eastern Nigeria. *Niger J Clin Pract*. 2009;12:79–82.
2. Chiavetta L, Chávez E, Ruzic A, Mollerach M, Regueira M. Vigilancia de *Neisseria meningitidis* en Argentina, 1993-2005: distribución de serogrupos, serotipos y subtipos causantes de enfermedad invasiva. *Rev Argent Microbiol*. 2007;39:21–7.
3. Christensen H, May M, Bowen L, Hickman M, Trotter CI. Meningococcal carriage by age: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2010;10:853–61.
4. Clark AE, Kaleta EJ, Arora A, Wolk DM. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Flight Mass Spectrometry: A fundamental shift in the routine practice of clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2016;26:547–603.
5. Claus H, Maiden M, Maag R, Frosch M, Vogel U. Many carried meningococci lack the genes required for capsule synthesis and transport. *Microbiology*. 2002;148:1813–9.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Neisseria meningitidis*. Performance standards for dilution antimicrobial susceptibility testing. 25th Informational Supplement. Wayne, Pa, EE.UU: M7-MIC; 2015.
7. Collard JM, Maman Z, Yacouba H, Djibo S, Nicolas P, Jusot JF, Rocourt J, Maitournam R. Increase in *Neisseria meningitidis* serogroup W135, Niger, 2010. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1496–8.
8. Elias J, Frosch M, Vogel U. *Neisseria*. En: Jorgensen JH, Pfaller MA, Karroll KC, Funke C, Landry ML, Richter SS, Warnock DW, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington DC: ASM Press; 2015. p. 635–51.
9. Eriksson L, Thulin Hedberg S, Jacobsson S, Fredlund H, Molling P, Stenmark B. Whole genome sequencing of the emerging invasive *Neisseria meningitidis* serogroup W in Sweden. *J Clin Microbiol*. 2018;26:56, pii: e01409-17.
10. Fiorito SM, Galarza PG, Sparo M, Pagano EI, Oviedo CI. An unusual transmission of *Neisseria meningitidis*, neonatal conjunctivitis acquired at delivery from the mother's endocervical infection. *Sex Transm Dis*. 2000;28:29–32.
11. Gorla MC, Paiva MV, Salgueiro VC, Lemos AP, Brandao AP, Vázquez JA, Brandileone MC. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria meningitidis* strains isolated from meningitis cases in Brazil from 2006 to 2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29:85–9.
12. Janda WM, Bohnhoff M, Morello JA, Lerner SA. Prevalence and site-pathogen studies of *Neisseria meningitidis* and *N. gonorrhoeae* in homosexual men. *JAMA*. 1980;244:2060.
13. Karolus JJ, Gandelman AL, Nolan BA. Urethritis caused by *Neisseria meningitidis*. *J Clin Microbiol*. 1980;12:284–5.
14. Katz AR, Chasnoff R, Komeva A, Lee MV. *Neisseria meningitidis* urethritis: A case report highlighting clinical similarities to and epidemiological differences from gonococcal urethritis. *Sex Transm Dis*. 2011;38:439–41.
15. Kawasaki Y, Matsubara K, Takahashi H, Morita M, Ohnishi M, Hori M, Isome K, Iwata A, Nigami H, Ikemachi M, Yamamoto G, Ohkusu K. Invasive meningococcal disease due to ciprofloxacin-resistant *Neisseria meningitidis* sequence type 4821: The first case in Japan. *J Infect Chemother*. 2018;24:305–8.
16. Kyaw MH, Bramley JC, Clark S, Christie P, Jones IG, Campbell H. Prevalence of moderate penicillin resistant invasive *Neisseria meningitidis* infection in Scotland, 1994-9. *Epidemiol Infect*. 2002;128:149–56.
17. Ladhani SN, Beebeejaun K, Lucidarme J, Campbell H, Gray S, Kaczmarek E, Ramsay ME, Borrow R. Increase in endemic *Neisseria meningitidis* capsular group W sequence type 11 complex associated with severe invasive disease in England and Wales. *Clin Infect Dis*. 2015;60:578–85.
18. 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.
19. Taha MK. Simultaneous approach for nonculture PCR-based identification and serogroup prediction of *Neisseria meningitidis*. *J Clin Microbiol*. 2000;38:855–7.
20. Odegaard A. Unusual manifestations of meningococcal infection. A review. *NIPH Ann*. 1983;6:59–63.

21. Orden B, Martínez-Ruiz R, Gonzalez-Manjavacas C, Mombiola T, Millan R. Meningococcal urethritis in a heterosexual man. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23:646–7.
22. Pana M, Ghita M, Levenet I, Nica M, Botea S, Osz T. The *in vitro* susceptibility to 7 antibiotics of *Neisseria meningitidis* strains isolated last years in Romania. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 2009;68:38–43.
23. Sáfadi M, González-Ayala S, Jäkel A, Wieffer H, Moreno C, Vyse A. The epidemiology of meningococcal disease in Latin America 1945-2010: An unpredictable and changing landscape. *Epidemiol Infect.* 2013;141:447–58.
24. Schmink S, Watson JT, Coulson GB, Jones RC, Díaz PS, Mayer LW, Wilkins PP, Messonnier N, Gerber SI, Fisher M. Molecular epidemiology of *Neisseria meningitidis* isolates from an outbreak of meningococcal disease among men who have sex with men, Chicago Illinois. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3768–70.
25. Shafer WM, Folster JP, Nicholas RA. Molecular mechanisms of antibiotic resistance expressed by the pathogenic *Neisseriae*. En: Genco CA, Wetzler L, editores. *Neisseriae: Molecular mechanisms of pathogenesis.* Boston, MA., USA: Caister Academic Press; 2010. p. 245–68.
26. Siqueira Batista R, Gomes AP, Dutra Gazineo JL, Balbino Miguel PS, Santana LA, Oliveira L, Geller M. Meningococcal disease, a clinical and epidemiological review. *Asian Pac J Trop Med.* 2017;10:1019–29.
27. Sorhuet-Pereira C, Efron A, Gagetti P, Faccione D, Regueira M, Corso A, Gabastou J, Ibarz-Pavón A, Argentinean SIREVA II Working Group. Phenotypic and genotypic characteristics of *Neisseria meningitidis* disease-causing strains in Argentina, 2010. *PLoS One.* 2013;8:e58065.