

Wanda Grzybowska¹, Grażyna Dulny², Alina Czerska³, Stefan Tyski¹

BADANIA NOSICIELSTWA *N. MENINGITIDIS*
PRZEPROWADZONE W ZIELONCE ORAZ CHARAKTERYSTYKA
MENINGOKOKÓW IZOLOWANYCH OD CHORYCH
Z TERENU TSSE-WOŁOMIN, WOJ. STOŁ. WARSZAWSKIE*

¹ Zakład Antybiotyków i Mikrobiologii, Instytut Leków w Warszawie
Dyrektor IL: prof. dr hab. *Aleksander P. Mazurek*

² Dział Epidemiologii, Wojewódzka Stacja Sanitarно-Epidemiologiczna w Warszawie
Dyrektor WSSE: lek. med. *Wojciech Żabicki*

³ Terenowa Stacja Sanitarно-Epidemiologiczna w Wołominie
Dyrektor TSSE: lek. med. *Leszek Borsuk*

*W nawiązaniu do poprzedniego artykułu, w którym omówiono sytuację epidemiologiczną zakażeń meningokokowych na terenie woj. stoł. warszawskiego, rejestrowanych przez Stacje Sanitarно-Epidemiologiczne oraz wystąpienia dwóch przypadków posocznicy meningokokowej u dziewczynek uczęszczających do tego samego przedszkola w Zielonce, w niniejszej pracy przedstawiono badania nosicielstwa *N. meningitidis* przeprowadzone w Zielonce oraz sposób postępowania z pobranym materiałem. Ponadto przeprowadzono analizę fenotypową i genotypową 6 szczepów *N. meningitidis* wyizolowanych w ostatnim okresie czasu od chorych hospitalizowanych w szpitalu w Wołominie – woj. stoł. warszawskie.*

BADANIA NOSICIELSTWA *N. MENINGITIDIS*
PRZEPROWADZONE W ZIELONCE

W dniach 13 i 23 września 1997 roku stwierdzono dwa zachorowania na posocznicę meningokokową u dziewczynek uczęszczających do dwóch różnych grup przedszkolnych Miejskiego Przedszkola Nr 1 w Zielonce, woj. stoł. warszawskie. Robocze sprawozdanie z badań przedstawiono w Meldunku dwutygodniowym (9).

W sobotę 27 września na drzwiach Rejonowej Poradni Zdrowia oraz przedszkola w Zielonce umieszczono informacje o planowanym badaniu w kierunku nosicielstwa w poniedziałek (29 września). W tym dniu w pomieszczeniach izolacyjnych Rejonowej

* Badania częściowo finansowane z Projektu Badawczego KBN Nr 4 PO5D 050 12 pt.: „Badanie stanu nosicielstwa szczepów *N. meningitidis*, *H. influenzae* i *S. pneumoniae* w jamie nosowo-gardłowej zdrowych dorosłych i dzieci oraz charakterystyka wyizolowanych szczepów” a także Projektu Badawczego KBN 4 PO5E 061 pt.: „Charakterystyka fenotypowa i genotypowa szczepów *Neisseria meningitidis* izolowanych w Polsce”.

Poradni w Zielonce przeprowadzono u 105 dzieci uczęszczających do przedszkola oraz u 15 osób personelu przedszkolnego jak również u 2 osób dorosłych pozostających w bliskim kontakcie z jednym z chorych dzieci, badania w kierunku nosicielstwa w gardle bakterii *Neisseria meningitidis*.

Osoby które nie poddały się badaniom w wyznaczonym dniu, jak również osoby u których przewidziano wykonanie kontrolnych badań były kierowane do pracowni bakteriologicznej przy szpitalu w Wołominie. Ogółem przebadano 130 osób (111 – dzieci, 15 osób personelu oraz 4 osoby z otoczenia chorych dzieci).

Lekarze epidemiolodzy z Warszawskiej WSSE i TSSE w Wołominie pobierali materiał do badań w postaci wymazu z tylnej ściany gardła. Posiewany był on bezpośrednio na podłoże wybiórczo-namnażające – agar czekoladowy z dodatkiem antybiotyków/linkomycyny [1 mg/L], amfoterycyny B [2 mg/L] i trimetoprimu [3 mg/L] oraz na agar czekoladowy bez antybiotyków.

Do izolacji meningokoków od nosicieli mogą być stosowane podłoża wybiórczo-namnażające z dodatkiem antybiotyków w różnych kombinacjach: np. podłoże z kolistyną 7,5 mg/L, linkomycyną 0,5 mg/L, amfoterycyną B 1,0 mg/L i trimetoprimem 5,0 mg/L (6), czy podłoże z kolistyną 7,5 mg/L i wankomycyną 3,0 mg/L (12), ewentualnie podłoże z wankomycyną 3,0 mg/L, kolistyną 7,5 mg/L i trimetoprimem 5,0 mg/L (14).

Posiane płytki z podłożem agarowym umieszczano w ciągu godziny w eksykatorze z CO₂ i inkubowano w 37°C. Następnego dnia prowadzono identyfikację drobnoustrojów, które wyrosły w postaci jednorodnych kolonii na podłożu agarowym a w przypadku wzrostu mieszanego przesiewano różniące się kolonie na agar czekoladowy. Do identyfikacji pobierano materiał z jednorodnej hodowli. Płytki bez wzrostu bakterii inkubowano przez następne 48 godzin.

W I etapie identyfikacji oceniono wygląd kolonii, wykonano preparat mikroskopowy barwiony metodą Grama, test na wykrywanie oksydazy, katalazy oraz w niektórych przypadkach odczyn lateksowy. W II etapie identyfikacji ziarenkowce Gram-ujemne, oksydazo i katalazo-dodatnie analizowano z użyciem testu API-NH w celu przeprowadzenia identyfikacji gatunkowej drobnoustrojów.

W ramach prowadzonej analizy z przebadanej ogólnej grupy, stopniowo wykluczono osoby, u których nie wyhodowano bakterii z rodzaju *Neisseria*. Pierwszego dnia prowadzenia identyfikacji wykluczono 74 osoby, w drugim dniu 31. Natomiast trzeciego dnia analizowano przypadki 17 osób (hodowle do tej pory nie były jednorodne) oraz prowadzono identyfikację gatunkową wyizolowanych drobnoustrojów z rodzaju *Neisseria*.

W wyniku przeprowadzonych badań nosicielstwa, stwierdzono występowanie: szczepów *N. lactamica* u 5 osób, *N. mucosa* u 2 osób u jednej – *N. sicca*.

U 6-letniego chłopca uczęszczającego do III grupy przedszkolnej wyhodowano szczep, który wstępnie określono jako *N. meningitidis* (dwoinki Gram-ujemne, oksydaza i katalaza dodatnie, grupa serologiczna B, wynik testu Api-NH wskazujący na meningokoki).

U 8 osób, dla których badania nosicielstwa wykonano w szpitalu w Wołominie nie wyhodowano szczepu *N. meningitidis*.

Przy okazji badań nosicielstwa (prowadzanych w ramach projektu badawczego KBN) wyhodowano szereg szczepów *S. pneumoniae* i *H. influenzae*.

Ze względu na brak czasu [konieczność przeprowadzenia chemioprophylaktyki u osoby podejrzanej o nosicielstwo meningokoków, w sobotę i niedzielę (4–5 października)] nie potwierdzano identyfikacji gatunkowej i nie określano w tym momencie lekooporności wyizolowanych szczepów.

Do eradykacji nosicielstwa oraz do profilaktycznej antybiotykoterapii, zgodnie z zaleceniami WHO, wybrano ryfampicynę, antybiotyk dobrze penetrujący do wydzieliny błony śluzowej górnych dróg oddechowych, na który szczepy *Neisseria meningitidis* wykazują dużą wrażliwość.

W ramach chemioprophylaktyki ryfampicynę podaje się doustnie, stosując u dorosłych dawkę 300 mg co 12 godz. przez dwa dni (4 dawki), u dzieci stosuje się odpowiednio 5–10 mg/kg masy ciała co 12 godz. w 4 dawkach.

W przypadku osób z Zielonki lekarz epidemiolog podjął decyzję o zastosowaniu chemioprophylaktyki u:

- otoczenia domowego dziewczynki, która zmarła,
- chłopca podejrzanego o nosicielstwo *N. meningitidis*
- otoczenia domowego chłopca podejrzanego o nosicielstwo *N. meningitidis*.

Otoczenie domowe (osoby dorosłe) drugiej dziewczynki (z sepsą meningokokową) otrzymało od lekarza leczącego w ramach chemioprophylaktyki pojedynczą dawkę cyprofloksacyny.

BADANIA PORÓWNAWCZE 6 SZCZEPÓW MENINGOKOKOWYCH IZOLOWANYCH OD CHORYCH Z REJONU TSSE W WOŁOMINIE W OKRESIE MARZEC 1996 – LISTOPAD 1997

W celu wyjaśnienia, czy zachorowania w Zielonce spowodowane były tym samym szczepem *N. meningitidis* oraz czy wyhodowane w tych przypadkach izolaty były podobne do innych szczepów wyizolowanych w ostatnim okresie czasu na terenie WSSE w Wołominie, przeprowadzono badania porównawcze stosując m.in. najbardziej nowoczesne metody typowania genetycznego drobnoustrojów. Badania przeprowadzono w Zakładzie *Neisseria* Statens Serum Institut w Kopenhadze, Dania.

Szczepy wyizolowane we wrześniu 1997 r. z jednej próbki płynu mózgowo-rdzeniowego i krwi obu dziewczynek zostały zidentyfikowane jako *Neisseria meningitidis*, serogrupy B, nietypujące się i o subtypie P1.14 (fenotyp – *N. meningitidis* B:NT:P1.14) (17).

Przeprowadzono badanie wrażliwości obu szczepów meningokokowych na penicylinę, cyprofloksacynę i sulfametoksazol metodą oznaczania najmniejszych rozcieńczeń hamujących wzrost drobnoustrojów (MIC) w podłożu stałym oraz w przypadku penicyliny dodatkowo z zastosowaniem E-testu. Oba szczepy wykazywały takie same wartości MIC, dużą wrażliwość na penicylinę [MIC=0,063 mg/L] i cyprofloksacynę [MIC=0,004 mg/L] oraz na sulfametoksazol [MIC=0,5 mg/L].

W celu określenia genetycznego pokrewieństwa między szczepami zastosowano metodę elektroforezy pulsacyjnej (PFGE – pulsed field gel electrophoresis) polegającą na porównaniu wzorów fragmentów DNA chromosomalnego uzyskanych w wyniku trawienia tego związku enzymami restrykcyjnymi (Bgl II i Not I) i dla obu izolatów wykazano pełną identyczność wzorów elektroforetycznych (ryc. 1).



Ryc. 1. Wzory elektroforetyczne DNA chromosomalnego, trawionego restryktazą Bgl II 6 szczepów *N. meningitidis* wyizolowanych od chorych z rejonu TSSE w Wołominie w okresie III 1996 – XI 1997, uzyskane metodą PFGE. Szczepy 1–3 izolowano z p.m.r. chorych w 1996 r. Szczepy 4 i 5 izolowano z materiału pobranego od dzieci z Zielonki. Szczep 6 izolowano z p.m.r. pd chorego w listopadzie 1997 r.

Dokonano również oceny podobieństwa tych dwóch izolatów, referencyjną dla meningokoków, metodą typowania elektroforetycznego (MLEE – multilocus enzyme electrophoresis), polegającą na określeniu wzoru odmian izoenzymów występujących w cytoplazmie komórek meningokoków (8).

Określono wzory 7 izoenzymów (ME-oksydoreduktaza jabłczanowa, IDH-dehydrogenaza izocytrynianu, G6P-dehydrogenaza 6-fosforo-glukozy, GD2-dehydrogenaza glutaminianu zależna od NAD, ALP-fosfataza alkaliczna, ADK-kinaza adenylanowa, FUM-fumaraza), które okazały się identyczne dla obu badanych szczepów.

Szczep wyizolowany w ramach nosicielstwa *N. meningitidis* od dzieci z przedszkola w Zielonce, wstępnie określony jako meningokok, po badaniach przeprowadzonych w Statens Serum Institut w Kopenhadze (w oparciu o szerszą charakterystykę biochemiczną i test Minibact (SSI)) zakwalifikowano jako *N. sicca* ewentualnie *N. perflava* a więc szczep niechorobotwórczy. Oznaczenie gatunku tego izolatu okazało się trudne do przeprowadzenia ze względu na nietypową ekspresję cech biochemicznych.

W listopadzie 1997 r. zanotowano kolejny przypadek zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych w rejonie, w którym wystąpiły dwa wcześniej omówione zachorowania. Przypadek ten dotyczył 5-miesięcznego noworodka płci męskiej od którego wyizolowano z płynu mózgowo-rdzeniowego szczep *N. meningitidis* B:22:P1.14, a więc o nieco innym fenotypie niż izolaty odpowiedzialne za sepse meningokokową w Zielonce. Wykazano wrażliwość badanego izolatu na penicylinę [MIC=0,063 mg/L] i cyprofloksacynę [MIC=0,004 jg/L] oraz oporność na sulfametoksazol [MIC=32 mg/L].

Ze względu na wystąpienie wszystkich trzech przypadków w jednym rejonie w dość krótkim okresie czasu, przeprowadzono analizę genetyczną wszystkich 3 izolatów dwiema omawianymi wcześniej metodami typowania. Wyniki obu analiz wykazały niewielkie różnice między dwoma identycznymi izolatami pochodzącymi z miesiąca września a wyizolowanym w listopadzie szczepem *N. meningitidis*. W metodzie MLEE wykazano różnicę w jednym z 7 badanych odmian izoenzymów (IDH), natomiast wzory restrykcyjne DNA chromosomalnego uzyskane metodą PFGE wykazały różnice kilku fragmentów DNA (trawionego dwiema restryktazami) między izolatami z września a izolatem listopadowym (ryc. 1).

Dodatkowo postanowiono dokonać porównania omawianych szczepów z trzema meningokokami wyizolowanymi w 1996 roku również w szpitalu w Wołominie.

Tabela I. Charakterystyka fenotypowa i wrażliwość na wybrane leki szczepów *N. meningitidis* wyizolowanych w rejonie podlegającym TSSE w Wołominie

Lp.	Data izolacji	Fenotyp	Najmniejsze stężenie hamujące – MIC (mg/L)		
			Penicylina	Cyprofloksacyna	Sulfametoksazol
1	03.1996*	BNT NST	0,125	0,008	32
2	04.1996*	BNT P1.2,5	0,063	0,004	32
3	05.1996*	BNT NST	0,032	0,008	32
4	09.1997**	BNT P1.14	0,063	0,004	0,5
5	09.1997**	BNT P1.14	0,063	0,004	0,5
6	11.1997**	B 22 P1.14	0,063	0,004	32

NT – szczep nie poddający się typowaniu; NST – szczep nie poddający się subtypowaniu;

* szczepy otrzymane ze szpitala w Wołominie; **szczepy otrzymane z WSSE

W tabeli I zestawiono fenotypową charakterystykę oraz badania wrażliwości na penicylinę, cyprofloksacynę i sulfametoksazol dla wszystkich analizowanych szczepów.

Wzory elektroforetyczne uzyskane metodą PFGE wykazały duże różnice między szczepami, z wyjątkiem dwóch identycznych izolatów pochodzących z września 1997 r. i stosunkowo blisko spokrewnionego genetycznie izolatu pochodzącego z listopada (ryc. 1).

Na podstawie przeprowadzonej analizy fenotypowej oraz genetycznej meningokoków można przyjąć z bardzo dużym prawdopodobieństwem, że oba przypadki posocznicy u dziewczynek w Zielonce spowodowane zostały tym samym szczepem *N. meningitidis*. Pomimo różnych grup przedszkolnych oraz zabezpieczeń organizacyjnych na terenie przedszkola należy podejrzewać, że dziewczynki bezpośrednio kontaktowały się ze sobą. Spowodowało to, że powstało ognisko zakażeń meningokokowych w Zielonce.

Badania nosicielstwa nie potwierdziły podejrzenia o obecności w środowisku, osób będących nosicielami dobrze scharakteryzowanego szczepu *N. meningitidis* izolowanego z przypadków sepsy. Porównanie wzorów fenotypowych, lekkooporności i badania genetyczne wykazały, że tylko dwa izolaty z września były identyczne wśród analizowanych 6 szczepów *N. meningitidis* izolowanych w rejonie TSSE w Wołominie w okresie marzec 1996 – listopad 1997.

NOSICIELSTWO *N. MENINGITIDIS*

Nosicielstwo *N. meningitidis*, w większości przypadków nie prowadzi do rozwoju choroby. Jednakże kolonizacja nabłonka śluzówki jamy nosowo-gardłowej przez meningokoki jest procesem, który w sprzyjających okolicznościach może zapoczątkować rozwój zakażenia.

Podczas okresów nieepidemicznych od 5 do 30% populacji ludzkiej jest skolonizowane przez *N. meningitidis*. Sugeruje to, że podobnie jak w przypadku innych zakażeń bakteryjnych, to czynniki gospodarza a nie tylko czynniki bakteryjne wpływają na rozwój zakażenia.

Nosicielstwo *N. meningitidis* jest ściśle związane z wiekiem gospodarza. W niemowlęctwie i we wczesnym dzieciństwie nosicielstwo meningokoków w jamie nosowo-gardłowej

jest zjawiskiem rzadkim (od 2 do 7%) (13). W tym okresie śluzówka dzieci jest skolonizowana przez dwoinki *N. lactamica* ściśle spokrewnione z *N. meningitidis*.

Neisseria lactamica jest drobnoustrojem niechorobotwórczym i różni się od *N. meningitidis* zdolnością do fermentacji laktozy oraz brakiem wydzielania proteiny IgA. Szczyt nosicielstwa *N. lactamica* stwierdzono w grupie dzieci od 7 miesięcy do 3 lat i może dotyczyć 50% populacji w tym wieku (3).

Nosicielstwo *N. lactamica* jest prawdopodobnie bardzo ważne w rozwoju odporności na choroby meningokokowe, ponieważ dzieci, których śluzówka jest skolonizowana przez ten drobnoustrój wytwarzają przeciwciała reaktywne wobec antygenów komórkowych szczepów *N. meningitidis* należących do serogrup A, B i C (10).

Czas trwania nosicielstwa *N. lactamica* jest stosunkowo krótki: 3–4 miesiące ale stopień nabywania tego nosicielstwa jest bardzo wysoki, szczególnie u niemowląt. Dzieci, których śluzówka była kolonizowana przez *N. lactamica*, rzadko zapadają na choroby meningokokowe, szczególnie w czasie epidemii (11).

Najwięcej nosicieli *N. meningitidis* stwierdza się w grupie starszych nastolatków i młodych osób dorosłych (15–24 lat). Nosicielstwo może obejmować od 25 do 35% tej populacji. (5, 13). U osób starszych nosicielstwo meningokoków spada do poziomu 10%.

Wysoki poziom nosicielstwa *N. meningitidis* stwierdza się w rodzinach i wśród osób mających bardzo bliski kontakt z chorym (osoba chora rzadko stanowi źródło zakażenia).

Najwyższe nosicielstwo stwierdza się w rodzinach, w których chorym był noworodek, średnie gdy pacjentem było dziecko w wieku od 1 do 14 lat najniższe w rodzinach gdzie chorym była osoba dorosła. Dane te sugerują, że niemowlęta i dzieci nabywają szczepy inwazyjne podczas kontaktu z bliską rodziną, natomiast w przypadku nastolatków i osób dorosłych nabywanie szczepów zachodzi w trakcie kontaktów na zewnątrz domu (4).

Wyższe nosicielstwo szczepów *N. meningitidis*: 40–60% stwierdza się u osób żyjących w zamkniętych społecznościach, takich jak jednostki wojskowe, szkoły, kopalnie, więzienia itp. (2, 14, 15).

Wyniki badań w kierunku nosicielstwa w gardle bakterii *Neisseria meningitidis* przeprowadzone w Zielonce są generalnie zgodne z danymi literaturowymi dotyczącymi nosicielstwa meningokoków u dzieci z tej grupy wiekowej. Na 105 przebadanych dzieci w wieku przedszkolnym u 5 osób stwierdzono występowanie *N. lactamica*, u 2 osób *N. mucosa* i u 1 osoby *N. sicca*. Nie stwierdzono nosicielstwa *N. meningitidis* w tej grupie wiekowej. Według jednych danych literaturowych nosicielstwo u dzieci w wieku od 0 do 4 lat wynosi 0%, a w grupie 5–9 lat około 16% (16), według innych doniesień u dzieci do lat 6 nosicielstwo meningokoków wynosi tylko około 6% (7). W przypadku meningokoków możemy wyraźnie rozgraniczyć nosicielstwo, którego szczyt osiągany jest pod koniec dwóch pierwszych dekad życia a najwyższym poziomem zachorowań, który występuje u dzieci poniżej 1 roku życia.

PODSUMOWANIE

W pracy omówiono badania nosicielstwa w kierunku *Neisseria meningitidis* u osób z Zielonki. Badania te nie potwierdziły podejrzenia o obecności w środowisku, osób będących nosicielami szczepu *N. meningitidis* wyizolowanego z przypadków posocznicy meningokokowej.

Przeprowadzono badania porównawcze (typowanie fenotypowe, genotypowe oraz ocenę wrażliwości szczepów na wybrane chemioterapeutyki) szczepów *N. meningitidis* wyizolowanych ze krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego osób chorych, hospitalizowanych w ostatnim okresie na terenie SSE w Wołominie. Dwa izolaty uzyskane od chorych dzieci z przedszkola w Zielonce posiadają identyczne wzory elektroforetyczne, pozostałe izolaty *N. meningitidis* wykazują duże różnice we wzorach elektroforetycznych uzyskanych metodą PFGE i MLEE.

W. Grzybowska, G. Dulny, A. Czarska, S. Tyski

MENINGOCOCCAL CARRIAGE STUDY PERFORMED IN ZIELONKA TOWN
AND CHARACTERISATION OF *NEISSERIA MENINGITIDIS*
STRAINS RECENTLY ISOLATED FROM BLOOD AND CSF
OF PATIENTS FROM WOŁOMIN'S HOSPITAL – WARSAW'S DISTRICT

SUMMARY

Meningococcal carriage study, performed after *N. meningitidis* outbreak in Zielonka included 130 persons (111 children). No *N. meningitidis* strain was isolated. Phenotype and genotype analysis of 6 meningococcal isolates obtained from blood and CSF, showed their heterogeneity with exception of 2 isolates from Zielonka's cases of meningococcal sepsis which were identical.

PIŚMIENNICTWO

1. Andersen J. *Neisseria meningitidis*: The carrier state: epidemiological and immunological investigations. Ph. D. Thesis. Copenhagen 1996.
2. Block C, Raz R, Frasch CE, i in. Re-emergence of meningococcal carriage on three-year follow-up of a kibbutz population after whole-community chemoprophylaxis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993, 12: 505–511.
3. Cartwright KAV, Stuard JM, Jones DM, i in. The Stonehouse survey: nasopharyngeal carriage of meningococcal disease. *Epidem Inf* 1987, 99: 591–601.
4. Cartwright KAV, Stuart JM, Robinson PM. Meningococcal carriage in close contacts of case. *Epidemiol Infect* 1991, 106: 133–141.
5. Caugant DA, Hoiby EA, Magnus P, i in. Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis* in a randomly sampled population. *Clin Microbiol* 1994, 32: 323–330.
6. Caugant DA, Hoiby EA, Rosenqvist E, i in. Transmission of *Neisseria meningitidis* among asymptomatic military recruits and antibody analysis. *Epidemiol Infect* 1992, 109: 241–253.
7. Caugant DA, Kristiansen B-E, Froholm LO, i in. Clonal diversity of *Neisseria meningitidis* from a population of asymptomatic carriers. *Infect Immun* 1988, 56: 2060–2068.
8. Caugant D.A, Bovre K, Gaustad P. Multilocus genotypes determined by enzyme electrophoresis of *Neisseria meningitidis* isolated from patients with systemic disease and from healthy carriers. *J Gen Microbiol* 1986, 132: 641–652.
9. Dulny G, Czarska A, Grzybowska W, i in. Meldunek 12/B/97 PZH, MZiOŚ 1997, 7.
10. Gold R, Goldschneider I, Lepow ML, i in. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in infants and children. *Infect Dis* 1978, 137: 112–121.
11. Groffoss JL, Brandt BL, Jarvis GA. Natural immunity to *Neisseria meningitidis*. Rozdział w książce. pod redakcją Vedros N.A. Evolution of meningococcal disease. Vol II. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc 1987, 99–115.

12. Kristiansen B-E, Tveten Y, Ask E, i in. Preventing secondary cases of meningococcal disease by identifying and eradicating disease-causing strains in close contacts of patients. *Scand J Infect Dis* 1992, 24: 165-173.
13. Olsen SF, Djurhuus B, Rasmussen K, i in. 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: 445-457.
14. Pether JVS, Lightfoot NF, Scott RJD, i in. Carriage of *Neisseria meningitidis*: investigations a military establishment. *Epidemiol Infect* 1988, 101: 21-42.
15. Ronne T, Berhelsen L, Buhl LH, i in. Comparative studies on pharyngeal carriage of *Neisseria meningitidis* during a localised outbreak of serogroup C meningococcal disease. *Scand J Infect Dis* 1993, 25: 331-339.
16. Stuart JM, Cartwright KAV, Robinson PM, i in. Effect of smoking on meningococcal carriage. *Lancet* 1998, September 23: 723-725.
17. Tyski S. Charakterystyka meningokoków i metody ich typowania. *Mikrobiologia Medycyna* 1995, 4: 12-16.

Podziękowania:

Pani mgr Zofii Puławskiej dziękujemy za udostępnienie szczepów *N. meningitidis* wyizolowanych od chorych w Szpitalu w Wołominie.

Pani dr Indze Lind dziękujemy za umożliwienie przeprowadzenia typowania fenotypowego i genetycznego przez mgr Wandę Grzybowską w *Neisseria* Dept. Statens Serum Institut w Kopenhadze.

Adres autora:

Prof. dr hab. Stefan Tyski

Zakład Antybiotyków i Mikrobiologii, Instytut Leków

ul. Chełmska 30/34 00-725 Warszawa, tel. 41-29-40, fax: 41-06-52