

ANN. SCLAVO, 1981, 23, n° 3, pp. 356-366.

**SAGGI DI VACCINAZIONE ANTIMENINGOCOCCICA CON
VACCINI POLISACCARIDICI DI GRUPPO «A» E «C»**

M. GABRIELLA GALLI, GAETANO M. FARA, MARIO SALETTI *, MASSIMO PORRO *,
MARIA L. RIBERO

*Istituto di Igiene I^a Cattedra, Università di Milano, via Sforza 35,
20122 Milano*

** Centro Ricerche, I.S.V.T. « Sclavo » S.p.A., via Fiorentina 1, 53100
Siena*

SUMMARY

FIELD TRIALS USING GROUP A AND C MENINGOCOCCAL POLYSACCHARIDE VACCINES.

The Authors reported the results of immunization studies using group A and group C meningococcal polysaccharide vaccines in 100 children aged 9-12 years. With the group A vaccine there was 90% and 92.8% seroconversion after 30 days, as determined by the bactericidal and passive haemagglutination tests, respectively. With the group C vaccine, 30 days from the first inoculation 100% and 91.2% of the vaccine recipients showed seroconversion as assessed by the bactericidal and passive haemagglutination tests, respectively.

After a second dose of vaccine administered 30 days later, the titers did not rise further in both groups. The efficacy of the vaccines indicated an association between the two techniques (bactericidal and passive haemagglutination).

INTRODUZIONE

Il riscontro sempre più frequente di ceppi di *Neisseria meningitidis* sulfamido ed antibiotico resistenti [1] [2] sottolinea la necessità di disporre ed utilizzare mezzi alternativi di prevenzione, rispetto alla classica chemioantibiotico-profilassi. Tale necessità è, indubbiamente, molto avvertita soprattutto nei Paesi africani, nei quali si verificano frequenti ed estese epidemie, conseguenti ad una elevata endemia.

Lavoro pervenuto il 26 febbraio 1981; accettato il 27 marzo 1981.

Partendo da questi presupposti epidemiologici, sono stati recentemente messi a punto e sperimentati, in varie parti del mondo, vaccini costituiti da antigeni polisaccaridici capsulari (finora solo per i sierogruppi A e C) di *Neisseria meningitidis*.

Le vaccinazioni eseguite negli Stati Uniti [3] [4], in Brasile [5] [6], Finlandia [7] [8], Egitto [9], Sudan [10] ed in Africa [11] hanno contenuto la diffusione di epidemie già in atto e diminuito, nella popolazione sana, la frequenza dei portatori.

Nel nostro Paese la meningite meningococcica ha un andamento endemo-sporadico ed i focolai di infezione si rilevano costantemente all'interno di collettività (scuole, caserme, nuclei familiari). Pertanto, può risultare particolarmente vantaggioso disporre di un vaccino per affrontare eventuali emergenze.

Al fine di valutare l'accettabilità di tale vaccinazione nel nostro Paese, abbiamo condotto una sperimentazione, utilizzando due vaccini polisaccaridici monovalenti, uno di gruppo A ed uno di gruppo C, preparati dall'Istituto Sieroterapico e Vaccinogeno Toscano « Sclavo » S.p.A. di Siena.

MATERIALI E METODI

VACCINI

Vaccino meningococcico gruppo A

Una dose immunizzante umana è costituita da: polisaccaride purificato di *Neisseria meningitidis* gruppo A, allo stato liofilo: 50 µg; eccipiente: lattosio 2,5 mg. Diluente: una fiala da 0,5 ml contenente soluzione isotonica tamponata pH 7,2.

Vaccino meningococcico gruppo C

Una dose immunizzante umana è costituita da: polisaccaride purificato di *Neisseria meningitidis* gruppo C, allo stato liofilo: 50 µg; eccipiente: lattosio 2,5 mg. Diluente: una fiala da 0,5 ml contenente soluzione isotonica tamponata pH 7,2.

SOGGETTI TRATTATI

Previa autorizzazione scritta e consapevole dei genitori, sono stati vaccinati 100 bambini (45 maschi e 55 femmine) di età compresa tra i 9 ed i 12 anni, frequentanti, nell'anno scolastico 1977-1978, le quarte classi elementari di due scuole del Comune di Rho (Milano).

Con il vaccino di gruppo A sono stati trattati 57 soggetti dei quali 40 ricevevano un'unica dose, simultaneamente al primo prelievo di sangue effettuato per

il controllo sierologico di base, mentre altri 17 ricevevano una seconda dose, 30 giorni dopo la prima, contemporaneamente al secondo prelievo.

Con il vaccino di gruppo C sono stati trattati 43 soggetti (23 maschi e 20 femmine), dei quali 23 ricevevano un'unica dose e altri 20 una seconda dose (con le stesse modalità già sopra riferite per i soggetti trattati con il vaccino di gruppo A).

Tutti i soggetti venivano singolarmente controllati e l'eventuale comparsa di reazioni sia locali che generali veniva registrata. Nella maggior parte dei casi è stato possibile seguire i soggetti fino al 45° giorno dalla prima iniezione. Solamente due tra i soggetti trattati con vaccino di gruppo A, e cinque tra i soggetti trattati con vaccino di gruppo C, non si ripresentarono al controllo sierologico e pertanto non risultano nei tabulati.

CONTROLLI SIEROLOGICI

Sui singoli campioni di siero le risposte anticorpali sono state valutate sia con il test battericida, secondo il metodo indicato dalla Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) [12], che con la emoagglutinazione passiva, secondo il metodo indicato da ARTENSTEIN e coll. [13], le cui tecniche, lievemente modificate, sono riferite in dettaglio.

Test battericida

Sospensione batterica. Una coltura fresca o liofila di *Neisseria meningitidis* veniva inoculata in terreno solido (Tripticase soy agar) ed incubata a 37°C per una notte, in presenza del 5% di CO₂.

La patina veniva sospesa in soluzione salina (NaCl 0,9%) fino ad ottenere una concentrazione batterica che desse, alla lettura allo spettrofotometro ($\lambda = 540$ nm), una assorbanza del 76%. Tale sospensione veniva ulteriormente diluita a 10⁻⁵ in salina ed a questa concentrazione veniva utilizzata per la esecuzione del test.

Esecuzione del test. Per la esecuzione del test i sieri venivano preliminarmente inattivati a 56°C per 30 min. Su piastre di microtitolazione venivano eseguite diluizioni dei sieri per raddoppio, nel volume di 0,2 ml, in soluzione tamponata di fosfati pH 6,9 (PBS).

Ad ogni pozzetto venivano aggiunti 100 μ l di sospensione batterica; dopo accurata agitazione venivano addizionati 100 μ l di complemento fresco di coniglio; dopo incubazione a 37°C per 30 min in presenza del 5% di CO₂, si aggiungeva in ogni pozzetto 1 ml di terreno (Tripticase soy agar); dopo agitazione accurata, si lasciava solidificare a temperatura ambiente; infine, le piastre venivano poste a incubare a 37°C per 18-24 h in presenza del 5% di CO₂.

Controlli. Per ogni prova venivano allestiti i seguenti controlli:

- a) controllo complemento. A 200 μ l di PBS in due pozzetti si aggiungevano 100 μ l di sospensione batterica alla concentrazione d'uso, 100 μ l di complemento di coniglio inattivato ed 1 ml di terreno;
- b) controllo cellule. In una serie di pozzetti si ponevano 200 μ l di PBS e 100 μ l di complemento inattivato; quindi, in una serie di pozzetti venivano aggiunti

100 μ l di sospensione batterica alla concentrazione d'uso, e in altre serie di pozzetti venivano addizionati rispettivamente 100 μ l della sospensione batterica diluita 1:2, 1:4 e 1:8.

Lettura dei risultati. Si considera titolo del siero in esame la più alta diluizione in grado di impedire la crescita batterica.

Test di emoagglutinazione passiva

Emazie sensibilizzate. Emazie di montone lavate tre volte in PBS venivano risospese al 4% in PBS. Per la sensibilizzazione venivano usate singolarmente preparazioni purificate di polisaccaride, rispettivamente di gruppo A e di gruppo C (preparazioni I.S.V.T. Sclavo S.p.A. di Siena) diluite in PBS ad una concentrazione di 20 μ g/ml; volumi uguali di sospensione di emazie al 4% e di soluzione di polisaccaride venivano incubate a 37°C per 30 min sotto continua agitazione; dopo centrifugazione, le emazie sensibilizzate venivano sottoposte a tre lavaggi in PBS ed infine venivano risospese e portate alla concentrazione finale dello 0,5% in PBS contenente lo 0,2% di siero albumina bovina.

Le emazie sensibilizzate venivano utilizzate entro 24 h dalla preparazione.

Esecuzione del test. Per l'esecuzione del test in piastre da microtitolazione i sieri in esame venivano diluiti per raddoppio in PBS nel volume di 25 μ l per pozzetto, fino alla diluizione finale di 1:512; a ciascun pozzetto venivano addizionati 50 μ l della sospensione allo 0,5% di emazie sensibilizzate e dopo delicata ed accurata agitazione le piastre venivano poste a 4°C fino al momento della lettura visiva effettuata a completa sedimentazione dei controlli.

Controlli. a) Controllo sieri: allo scopo di escludere eventuali agglutinazioni aspecifiche per ogni siero in esame venivano effettuate due (o tre) diluizioni alle quali venivano addizionati 50 μ l di sospensione allo 0,5% di emazie di montone non sensibilizzate. b) Controlli positivo e negativo: in ogni prova venivano introdotti costantemente sia un siero positivo a titolo noto che un siero sicuramente negativo.

Lettura dei risultati. Il titolo anticorpale veniva espresso come la più alta diluizione di siero ancora capace di dare netta emoagglutinazione.

RISULTATI

Le risposte anticorpali alla inoculazione del vaccino di gruppo A, valutate in base al test battericida, sono state riportate nella Tabella I. Dei 38 bambini seguiti, dopo inoculazione di una sola dose di vaccino, la percentuale di soggetti che hanno evidenziato anticorpi è salita dal 5,3 all'86,8% dopo 30 giorni ed al 90,6% dopo 45 giorni dalla somministrazione. I 17 soggetti rivaccinati al 30° giorno hanno mostrato, al 45° giorno, una percentuale di positività del 100%; tale valore non si disco-

Tabella I - Risposte anticorpali (test battericida) ad una e due dosi di vaccino meningococcico di gruppo A.

Trattamento	Tempo (giorni)	% con titolo battericida		\bar{x} g dei titoli		Incremento	Limiti di confidenza (P = 0,05)
		<1 : 20	>1 : 20	Pre	Post		
Dose singola (N° 55) *	0	94,5	5,5	1 : 10,4		10,5	1 : 89 ÷ 1 : 134
	30	10,9	89,1	1 : 109			
Dose singola (N° 38)	0	94,7	5,3	1 : 12,5		10,4	1 : 103 ÷ 1 : 164
	30	13,2	86,8	1 : 130			
	45	9,4	90,6	1 : 229			
2 dosi (N° 17)	0	94,1	5,9	1 : 10,4		7,4	1 : 53 ÷ 1 : 111
	30	5,8	94,2	1 : 77			
	45	0	100	1 : 106			

* Il primo gruppo include i soggetti del secondo e terzo gruppo, limitatamente al periodo 0-30 giorni.

sta tuttavia in modo significativo da quello del 94,2% rilevato al 30° giorno, dopo la somministrazione di una sola dose.

Globalmente considerati, i 55 soggetti già al 30° giorno mostravano un incremento di 10,5 volte della media geometrica (\bar{x} g) dei titoli. Distinguendo tra non rivaccinati e rivaccinati si rileva che, mentre i 38 soggetti non rivaccinati hanno mostrato nei confronti del titolo medio di partenza un incremento di 10,4 volte a 30 giorni e di 18,3 volte a 45 giorni, per i 17 rivaccinati l'incremento tra il 30° ed il 45° giorno non è apparso altrettanto rilevante (da 7,4 a 10,2).

Nella Tabella II sono state riportate le risposte anticorpali al vaccino meningococcico di gruppo C, valutate in base al test battericida. Tra i 18 bambini ricevuti una singola dose di vaccino, la percentuale dei soggetti positivi è passata dal 16,7 al 100% già dopo 30 giorni. Anche i 20 soggetti sottoposti a rivaccinazione al 30° giorno già presentavano il 100% di risposte positive.

Globalmente considerati, i 38 soggetti mostravano, al 30° giorno, un incremento del titolo di 7,7 volte. Distinguendo tra non rivaccinati e rivaccinati, mentre i 18 soggetti non rivaccinati hanno mostrato nei confronti del titolo medio di partenza un incremento di 8,2 volte al 30° giorno e di 12,0 volte al 45° giorno, per i 20 rivaccinati l'incremento della \bar{x} g tra il 30° ed il 45° giorno è apparso meno rilevante (da 7,3 a 9,3 volte).

Tabella II - Risposta anticorpale (test battericida) ad una e due dosi di vaccino meningococcico di gruppo C.

Trattamento	Tempo (giorni)	% con titolo battericida		\bar{x} g dei titoli		Incremento	Limiti di confidenza (P = 0,05)
		<1 : 20	>1 : 20	Pre	Post		
Dose singola (N° 38) *	0	87,2	12,8	1 : 10,8			
	30	0	100		1 : 83	7,7	1 : 67 ÷ 1 : 103
Dose singola (N° 18)	0	83,3	16,7	1 : 11,2			
	30	0	100		1 : 92	8,2	1 : 66 ÷ 1 : 128
	45	0	100		1 : 135	12,0	1 : 104 ÷ 1 : 178
2 dosi (N° 20)	0	90,5	9,5	1 : 10,6			
	30	0	100		1 : 77	7,3	1 : 58 ÷ 1 : 103
	45	0	100		1 : 99	9,3	1 : 72 ÷ 1 : 137

* Il primo gruppo include i soggetti del secondo e del terzo gruppo, limitatamente al periodo 0-30 giorni.

Tabella III - Frequenza di sieroconversioni in soggetti sieronegativi dopo una dose singola di vaccino.

	Tipo A	Tipo C
a) conversione a 30 giorni *		
N° soggetti	52 **	30 **
% conversione	88,5	100
b) conversione a 45 giorni		
N° soggetti	35 **	15 **
% conversione	91,4	100

* In questo gruppo sono stati inclusi anche i soggetti che, dopo il prelievo a 30 giorni, hanno immediatamente subito una seconda inoculazione di vaccino omotipico.

** Queste cifre escludono, rispetto ai soggetti di cui alle Tabelle I e II, oltre che quelli inizialmente sieropositivi, anche coloro a cui al 30° o al 45° giorno non si sono potuti praticare i prelievi programmati.

Nella Tabella III sono state sintetizzate le frequenze di sieroconversione, valutate con il test battericida al 30° ed al 45° giorno, nei soggetti originariamente negativi che hanno ricevuto una singola dose.

Per il vaccino di gruppo A detta frequenza è risultata dell'88,5% al 30° giorno e del 91,4% al 45° giorno. Per il vaccino di gruppo C la sieroconversione è risultata del 100% già al 30° giorno.

Nella Tabella IV sono stati riportati i risultati ottenuti saggiando gli anticorpi emoagglutinanti verso i meningococchi di gruppo A. Su 55 soggetti vaccinati il 96,4% è risultato, al momento della vaccinazione, privo di anticorpi. Al 30° giorno è stata rilevata sieropositività nel 92,8% dei vaccinati e la \bar{x} g dei titoli è risultata di 1:150,7 con un incremento di 140,8. Dopo due dosi veniva rilevato un incremento di 122,8 volte al 30° giorno e di 150,6 volte al 45° giorno.

Nella Tabella V sono stati riportati i risultati della determinazione degli anticorpi emoagglutinanti nei soggetti trattati con il vaccino di tipo C. Il 94,6% dei 38 soggetti che risultavano privi di anticorpi prima della somministrazione di una sola dose di vaccino, presentava, dopo 30 giorni, una sieropositività nel 91,2%, con \bar{x} g dei titoli di 1:86,8 ed un incremento di 81,1.

Tabella IV - Risposte anticorpali (emoagglutinazione passiva) ad una e due dosi di vaccino meningococcico di gruppo A.

Trattamento	Tempo (giorni)	% con titolo emoagglutinante		\bar{x} g dei titoli		Incremento	Limiti di confidenza (P = 0,05)
		<1:8	≥1:8	Pre	Post		
Dose singola (N° 55) *	0	96,4	3,6	1:1,07			
	30	7,2	92,8		1:150,7	140,8	1:89 ÷ 1:254
2 dosi (N° 17)	0	100	0	1:1			
	30	5,9	94,1		1:122,8	122,8	1:49 ÷ 1:306
	45	0	100		1:150,6	150,6	1:68 ÷ 1:329

* Il primo gruppo include i soggetti del secondo gruppo, limitatamente al periodo 0-30 giorni.

Tabella V - Risposte anticorpali (emoagglutinazione passiva) ad una e due dosi di vaccino meningococcico di gruppo C.

Trattamento	Tempo (giorni)	% con titolo emoagglutinante		\bar{x} g dei titoli		Incremento	Limiti di confidenza (P = 0,05)
		<1:8	≥1:8	Pre	Post		
Dose singola (N° 38) *	0	94,6	5,4	1:1,07			
	30	8,8	91,2		1:86,8	81,1	1:45 ÷ 1:165
2 dosi (N° 20)	0	100	0	1:1			
	30	5,3	94,7		1:95,6	95,6	1:45 ÷ 1:198
	45	6,2	93,8		1:86,6	86,6	1:38 ÷ 1:196

* Il primo gruppo include i soggetti del secondo gruppo, limitatamente al periodo 0-30 giorni.

Nei soggetti riceventi due dosi di vaccino la \bar{x} g dei titoli, che al 30° giorno risultava di 1:95,6 con un incremento di 95,6, non variava sostanzialmente al 45° giorno (\bar{x} g = 1:86,6; incremento = 86,6).

Nella Tabella VI sono state poste a confronto le percentuali di sieroconversione valutate al 30° giorno con i due metodi sierologici utilizzati. Su 45 soggetti vaccinati con vaccino di gruppo A si è riscontrata una sieroconversione del 91,1%, sia per gli anticorpi battericidi che per gli emoagglutinanti. Tra i 26 soggetti vaccinati con vaccino di gruppo C si è notata una sieroconversione del 96,2% per gli anticorpi battericidi contro l'88,5% per gli emoagglutinanti.

Le reazioni collaterali che sono state rilevate a seguito della somministrazione dei due tipi di vaccino sono riportate nelle Tabelle VII e VIII.

Dall'analisi comparativa si rileva che un'unica dose ha indotto, nel 38,6% per il vaccino di gruppo A e nel 39,5% per il vaccino di gruppo C, reazioni locali che si limitavano sostanzialmente ad eritema e/o indurimento, nel punto di inoculo, di breve durata. Modeste alterazioni febbrili si sono manifestate nel 12,3% dei soggetti trattati con il vaccino di gruppo A e nel 18,6% dei soggetti trattati con il vaccino di gruppo C.

Tabella VI - Frequenza di sieroconversioni in soggetti sieronegativi dopo una dose singola di vaccino. Determinazione parallela degli anticorpi battericidi ed emoagglutinanti.

30 giorni	Test battericidi		Test emoagglutinazione passiva	
	A	C	A	C
N° vaccinati	45	26	45	26
% conversioni	91,1	96,2	91,1	88,5

Tabella VII - Reazioni locali e febbrili dopo somministrazione di vaccino meningococcico di gruppo A.

Trattamento	Vaccinati N°	Reaz. febbrili			Reaz. locali (*) N° (%)	Reaz. febbrili + locali N° (%)
		(a) N° (%)	(b) N° (%)	(c) N° (%)		
Dopo la I ^a dose	57	7 (12,3)	1 (1,7)	0	22 (38,6)	4 (7,0)
Dopo la II ^a dose	17	3 (17,6)	0	0	9 (52,9)	2 (11,8)

(a) temperatura <38°C, durata <48 h; (b) temperatura >38°C, durata <48 h; (c) temperatura >38°C, durata >48 h; (*) eritema o indurimento.

Tabella VIII - Reazioni locali e febbrili dopo somministrazione di vaccino meningococcico di gruppo C.

Trattamento	Vaccinati N°	Reaz. febbrili						Reaz. febbrili + locali	
		(a)		(b)		(c)		locali (*)	
		N°	(%)	N°	(%)	N°	(%)	N°	(%)
Dopo la I ^a dose	43	8	(18,6)	1	(2,3)	0		17	(39,5)
Dopo la II ^a dose	22	3	(13,6)	0		0		10	(45,4)
								4	(9,3)
								1	(4,5)

(a) temperatura <38°C, durata <48 h; (b) temperatura >38°C, durata <48 h; (c) temperatura >38°C, durata >48 h; (*) eritema o indurimento.

Solo eccezionalmente (un caso per ciascun vaccino, pari all'1,7-2,3%) è stata osservata febbre di grado medio (intorno a 38°C) di durata inferiore a 48 ore. Non sono state rilevate alterazioni febbrili durature di grado elevato. Solo nel 7% dei casi per il vaccino A e nel 9,3% per il vaccino C sono stati osservati, contemporaneamente, eritema locale e stato febbrile.

La natura e la frequenza delle reazioni, sia locali che generali, manifestatesi dopo la seconda inoculazione di entrambi i vaccini, non si sono sostanzialmente discostate da quelle rilevate dopo una singola dose. In nessun caso è stata rilevata la formazione locale di ascessi.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I sieri di 100 bambini, di età compresa tra 9 e 12 anni, 57 dei quali vaccinati con vaccino meningococcico di gruppo A e 43 con quello di gruppo C, mostravano una positività, prima della vaccinazione, rispettivamente del 5,5 e del 12,8% verso i meningococchi dei gruppi A e C, analizzati con il test battericida (diluizione minima saggiata 1:20) e del 3,6% (gruppo A) e del 5,4% (gruppo C), analizzati con emoagglutinazione passiva (diluizione minima saggiata 1:8).

Dopo somministrazione del vaccino di gruppo A è stata rilevata sieropositività, dopo 30 giorni, nel 90% dei soggetti (test battericida) e nel 92,8% (test di emoagglutinazione passiva), mentre per il vaccino di gruppo C è stata raggiunta, al 30° giorno, una sieropositività del 100% (test battericida) e del 91,2% (emoagglutinazione passiva).

La somministrazione di una seconda dose di vaccino, 30 giorni dopo la prima, non stimolava un ulteriore incremento del titolo anticorpale, al 45° giorno, rispetto a quello che si rilevava in pari data, dopo

la somministrazione di una singola dose. In base alla natura ed alla frequenza delle reazioni osservate, si può affermare che i vaccini saggiati hanno mostrato una buona tollerabilità.

In conclusione, i dati sperimentali sopra riferiti dimostrano che i vaccini polisaccaridici, anche somministrati in dose singola di 0,5 ml, stimolano una adeguata risposta immunitaria nei vaccinati.

L'applicazione di tali vaccinazioni, nel nostro Paese, deve tenere conto, prima di tutto, della nostra situazione epidemiologica (circa 700 casi di infezioni meningococciche per anno, dei quali spesso non esiste una conferma diagnostica di laboratorio). Come già abbiamo accennato precedentemente, questi casi sono normalmente sporadici, o si presentano con più frequente ricorrenza in piccole collettività. Per queste ragioni non sarebbe certo opportuno applicare la vaccinazione in modo estensivo nel nostro Paese, mentre ne esiste una chiara indicazione come misura profilattica in soggetti a rischio, comprendendo tra questi soprattutto i contatti di malati (una volta identificato il sierogruppo di *Neisseria meningitidis* in causa, dato che per ora sono disponibili solo i vaccini di gruppo A e C), il personale addetto ai reparti di malattie infettive, ai laboratori di analisi, ecc.

Un'altra più estensiva utilizzazione di tali vaccini potrebbe essere quella « mirata » sulle reclute all'inizio del servizio militare, con il vantaggio di offrire una protezione per tutta la durata di tale servizio, dato che i vaccini polisaccaridici meningococcici sperimentati risultano dare una protezione immunitaria per almeno due anni [9].

Una conoscenza più approfondita della diffusione dei sierogruppi di *Neisseria meningitidis* nel nostro Paese consentirebbe, poi, di stabilire la opportuna composizione di un futuro vaccino polisaccaridico polivalente contenente, oltre ai sierogruppi A e C, anche gli eventuali altri più comunemente riscontrabili nella popolazione.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - CAMPELLO C, LACH S, MAJORI L — Portatori di meningococco in popolazioni del Friuli-Venezia Giulia: distribuzione in sierogruppi e chemioantibioticoresistenza degli stipiti isolati. *Ig Mod*, 1979, 5, 473-487.
- 2 - SHTIBEL R — Susceptibility-resistance pattern of *Neisseria meningitidis* isolated in the province of Ontario, Canada. *Ann Microbiol*, 1979, 130, 3-11.
- 3 - ARTENSTEIN MS, GOLD R, ZIMMERLY JG, WYLE FA, SCHNEIDER H, HARKINS C — Prevention of meningococcal disease by group C polysaccharide immunogens. *New Eng J Med*, 1970, 2, 417-420.

gococcico

z. febbrili
locali

° (%)

(9,3)
(4,5)

tempera-

-2,3%)

a infe-
ure di
per il
cale e

li; ma-
non si
la do-

quali
quello
ie, ri-
ppi A
20) e
agglu-

a sie-
da) e
ccino
à del

dopo
pale,
dopo