



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Serotipificación y susceptibilidad antimicrobiana de  
*Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones  
durante 2018**

**TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I O L O G O**  
P R E S E N T A:  
DANIA STEPHANIE BRITO BELTRÁN

**DIRECTORA:**  
M. EN C. MARÍA NOEMÍ CARNALLA BARAJAS

**CUERNAVACA, MORELOS**

**SEPTIEMBRE, 2020**

## **AGRADECIMIENTOS**

Por recibirme, guiarme y apoyarme durante todo este proceso lleno de experiencias y vasto conocimiento. Por brindarme todos los recursos para llevar a cabo este proyecto.

M. en C. María Noemí Carnalla Barajas  
Dra. Irma Gabriela Echániz Avilés

Por sus comentarios y sus valiosos consejos que hicieron posible este trabajo.

### **Comité sinodal de tesis:**

Presidente: Dra. María Luisa Castrejón Godínez

Secretario: Dra. Lilia Montoya Lorenzana

1° vocal: M. en C. María Noemí Carnalla Barajas

2° vocal: Biol. Rita Barreto González

3° vocal: Dra. Irma Gabriela Echániz Avilés

Por compartirme sus extraordinarios conocimientos y apoyo incondicional.

### **Laboratorio 1 planta alta del Centro de Investigación Sobre Enfermedades**

#### **Infeciosas del Instituto Nacional de Salud Pública:**

T.S. Máxima Larios Guzmán

Biol. Margarita Hernández Salgado

M. en C. Araceli Soto Noguero

## DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi mamá, Ma. De los Ángeles Beltrán Valladares que, gracias a su esfuerzo, cariño y apoyo durante toda mi vida y trayectoria académica, pude culminar este gran paso tan importante e indispensable en mi vida. Gracias por ser mi fuente de inspiración para seguir adelante y seguir superándome cada día un poco más.

A mi novio, Javier Rodríguez Hernández, por acompañarme en los mejores y peores momentos de este camino, por darme los mejores consejos que pude haber tenido, por ser tan paciente y comprensible conmigo y, por supuesto, por todo el amor que me demuestras todos los días. Este sólo es el primer paso para una vida llena de éxitos y felicidad que nos espera juntos.

A mis amigos, por acompañarme y compartir las experiencias que conlleva todo este proceso, por todos esos momentos llenos de risas y alegría, por sus consejos...en fin, gracias por brindarme su gran amistad.

Y, por último, a mis amigos fieles, Copper y Oddi, que me acompañaron todas esas noches de desvelos y ansiedad. No saben la gran fuente de apoyo emocional que son para mí y la alegría que traen a mi vida. Los amo.

Solo Dios y el universo son testigos de cuanto los amo y lo importante que son para mí cada uno de ustedes.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
I.1 Epidemiología .....	4
I.2 Generalidades.....	5
I.3 Factores de virulencia .....	8
I.4 Susceptibilidad y resistencia antimicrobiana .....	11
I.5 Serotipos.....	13
I.6 Vacunas neumocócicas .....	14
<b>III. ANTECEDENTES</b> .....	<b>19</b>
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>29</b>
<b>V. HIPOTESIS</b> .....	<b>30</b>
<b>VI. OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
VI.1 Objetivo General.....	31
VI.2 Objetivos específicos.....	31
<b>VII. METODOLOGÍA</b> .....	<b>32</b>
VII.1. Material y método .....	33
VII.2. Siembra y aislamiento de cepas de <i>S. pneumoniae</i> .....	34
VII.3. Identificación de cepas de <i>S. pneumoniae</i> .....	34
VII.4. Serotipificación de cepas <i>S. pneumoniae</i> .....	35
VII.5. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>S. pneumoniae</i> .....	36
VII.6 Análisis de datos.....	38
<b>VIII.RESULTADOS</b> .....	<b>39</b>
VIII.1 Características de los aislamientos de <i>S. pneumoniae</i> .....	39
VIII.2 Distribución de serotipos .....	42
VIII.3 Susceptibilidad antimicrobiana .....	45
<b>IX. DISCUSIÓN</b> .....	<b>51</b>
<b>X. CONCLUSIONES</b> .....	<b>56</b>
<b>XI. PERSPECTIVAS</b> .....	<b>57</b>
<b>XII. REFERENCIAS</b> .....	<b>58</b>
<b>XIII.ANEXOS</b> .....	<b>66</b>
ANEXO 1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS .....	66
ANEXO 2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO .....	67
ANEXO 3. SEROTIPIFICACIÓN.....	69

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.....	11
Figura 2.....	15
Figura 3.....	24
Figura 4.....	34
Figura 5.....	35
Figura 6.....	35
Figura 7.....	36
Figura 8.....	37
Figura 9.....	39
Figura 10.....	42
Figura 11.....	44
Figura 12.....	45
Figura 13.....	46
Figura 14.....	47
Figura 15.....	47
Figura 16.....	48
Figura 17.....	48
Figura 18.....	49
Figura 19.....	49
Figura 20.....	50

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.....	22
Tabla 2.....	25
Tabla 3.....	26
Tabla 4.....	33
Tabla 5.....	38
Tabla 6.....	40
Tabla 7.....	41
Tabla 8.....	42
Tabla 9.....	67
Tabla 10.....	68
Tabla 11.....	68
Tabla 12.....	69
Tabla 13.....	70

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS Y ACRONIMOS

ABCs: *Active Bacterial Core surveillance* (Vigilancia Activa del Núcleo Bacteriano)  
ATCC: *American Type Culture Collection* (Colección Americana de Cultivos Tipificados)  
ATP: *Adenosine Triphosphate* (Adenosin Trifosfato)  
ATPasa: Adenosintrifosfatasa  
BHI: *Brain Heart Infusion* (Caldo Infusión Cerebro Corazón)  
CISEI: Centro de Investigación Sobre Enfermedades Infecciosas  
CMI: Concentración Mínima Inhibitoria  
CLSI: *Clinical and Laboratory Standard Institute* (Instituto de estándares clínicos y de laboratorio)  
ENI: Enfermedades Neumocócicas Invasivas  
ENNI: Enfermedades Neumocócicas no Invasivas  
GIVEBPVac: Grupo Interinstitucional para la Vigilancia de Enfermedades Bacterianas Prevenibles por Vacunación.  
IgA: Inmunoglobulina A  
IgM: Inmunoglobulina M  
INSP: Instituto Nacional de Salud Pública  
IPD: *Invasive Pneumococcal Disease* (Enfermedad Neumocócica Invasiva)  
NIPD: *Non-Invasive Pneumococcal Disease* (Enfermedad Neumocócica no Invasiva)  
IRA: Infecciones Respiratorias Agudas  
NCCLS: *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico)  
MDR: Multidrogorresistente  
OPS: Organización Panamericana de la Salud  
OMA: Otitis Media Aguda  
SIREVA (II): Sistema Regional de Vacunas  
*S. pneumoniae*: *Streptococcus pneumoniae*  
TMP/SMX: Trimetoprima/ Sulfametoxazol  
PCV7: *7-valent pneumococcal conjugate vaccine* (vacuna antineumocócica conjugada 7-valente)  
PCV10: *10-valent pneumococcal conjugate vaccine* (vacuna antineumocócica conjugada 10-valente)  
PCV13: *13-valent pneumococcal conjugate vaccine* (vacuna antineumocócica conjugada 13-Valente)  
PPV23: *23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine* (vacuna antineumocócica polisacáridica 23-valente)

## RESUMEN

*Streptococcus pneumoniae* representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial en niños menores de cinco años y adultos mayores de 65 años causando infecciones como neumonía, bacteremia, septicemia, meningitis, sinusitis y otitis media. Según la OMS cerca de un millón de niños mueren por enfermedades neumocócicas cada año. Actualmente se conocen 97 serotipos de *S. pneumoniae*, los cuales pueden variar de acuerdo a su distribución geográfica y cada uno de ellos varía en su capacidad de causar enfermedad, así como también pueden presentar resistencia a los antibióticos. Existen vacunas conjugadas compuestas en base a los serotipos capsulares de *S. pneumoniae*, sin embargo, después de la introducción de las vacunas antineumocócicas conjugadas, se han observado cambios en la distribución de los serotipos. Así como un incremento en la resistencia, debido a distintos factores dentro de los que se encuentra una mala prescripción y uso/abuso de antibióticos. Debido a ello, en el presente trabajo se determinaron los serotipos y la susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae* en muestras de pacientes de hospitales participantes de la red GIVEBPVac durante el 2018. Se analizó un total de 186 cepas de *S. pneumoniae*. Los serotipos encontrados en mayor proporción fueron el serotipo 19A y 3 dentro de los serotipos vacunales, así como también se observó un incremento en la prevalencia de los serotipos no vacunales tales como 35B, 6C, serogrupo 15, 7C, 23B y no tipificables. Los serotipos 19A, 6C y serogrupo 15 se vieron más relacionados con enfermedades neumocócicas invasivas, mientras que, los serotipos 3, 35B, 7C, 15C, 23B y no tipificables se presentaron en diagnósticos de enfermedades neumocócicas no invasivas. Las cepas *S. pneumoniae* estudiadas en este periodo presentaron una importante sensibilidad a penicilina en cepas no meníngeas, pero una mayor resistencia en cepas meníngeas; lo mismo se presenta con cefotaxima meníngea y no meníngea. Se encontraron altos porcentajes de resistencia para cloranfenicol, eritromicina y TMP/SMX. Los resultados obtenidos son de utilidad para poder comparar el recambio de serotipos que se producen cada año, así como las enfermedades neumocócicas que producen en los distintos grupos etarios de nuestra población, lo cual nos permitirá comprender el impacto que tienen las vacunas antineumocócicas actuales y de futura introducción.

## I. INTRODUCCIÓN

*Streptococcus pneumoniae* mejor conocido como neumococo constituye un problema prioritario de salud pública debido a las elevadas tasas de morbilidad y mortalidad que provoca, especialmente en la población infantil, adultos mayores de 65 años de edad y pacientes inmunocomprometidos, así como al incremento creciente de su resistencia a los antibióticos (Agudelo *et al.*, 2009).

*S. pneumoniae* es una bacteria Gram positiva, capsulada, usualmente se dispone en diplococos, aunque, también, llega a formar pequeñas cadenas. En los humanos, forma parte de la microbiota común de la nasofaringe. Hasta el 27-65% de los niños y <10% de los adultos son portadores de *S. pneumoniae* de forma asintomática, ésta colonización implica una relación de comensalismo entre la bacteria y el huésped (Weiser *et al.*, 2018). Sin embargo, la diseminación del neumococo hacia otros sitios del cuerpo puede provocar Enfermedades Neumocócicas no Invasivas (ENNI) como otitis media aguda y sinusitis; o en otros casos, si la bacteria logra llegar a sitios estériles del cuerpo provoca Enfermedades Neumocócicas Invasivas (ENI) como bacteremia que, a su vez, desencadena una sepsis, también causa neumonía y, en situaciones mucho más graves, meningitis.

Los patógenos de circulación comunitario como *S. pneumoniae*, se han vuelto cada vez más resistentes a los antimicrobianos. Por esta razón, en el 2017, la Organización Mundial de la Salud incluyó a *S. pneumoniae* como uno de los 12 patógenos prioritarios y estima que, en países en desarrollo, cerca de un millón de niños mueren por enfermedades neumocócicas cada año. La resistencia a los antimicrobianos del neumococo conduce a cambios en la presentación clínica de la enfermedad neumocócica, lo que dificulta el diagnóstico y el tratamiento y está aumentando a nivel mundial, siendo la principal preocupación, la resistencia a los  $\beta$ -lactámicos y macrólidos (Cillóniz *et al.*, 2016; Organización Mundial de la Salud, 2015).

Actualmente se conocen 97 serotipos de *S. pneumoniae*, los cuales se clasifican en base a la composición de su cápsula polisacáridica, definidos por números y letras. Los

serotipos de *S. pneumoniae* poseen características químicas e inmunológicas distintas entre uno y otro. Solo unos pocos van a ser responsables de la mayoría de los casos de ENI. Para la enfermedad neumocócica invasiva, se ha demostrado que el tipo de cápsula es un predictor más fuerte del potencial invasivo que el genotipo (Devine *et al.*, 2017). La frecuencia de aislamiento de cada serotipo va a depender de la edad, la presentación clínica, el área geográfica y la temporada del año (Méndez *et al.*, 2015). Una de las principales estrategias para disminuir la morbilidad y mortalidad asociadas con las infecciones invasivas causadas por *S. pneumoniae* es la vacunación.

Después de la introducción y aplicación en niños de la vacuna antineumocócica conjugada heptavalente (PCV7), en el año 2000 en Estados Unidos, se evidenció una gran reducción de los serotipos vacunales tanto en los infantes como en adultos, reflejando que los niños son el reservorio y el vector de la ENI en adultos y que la vacuna proporciona inmunidad de grupo (efecto rebaño) (Méndez *et al.*, 2015). Así mismo, algunos países, incluyendo México, que incorporaron esta vacuna en su esquema de vacunación, mostraron un fenómeno conocido como reemplazo de serotipos que consiste en una disminución constante en los serotipos incluidos en la vacuna, pero un aumento de los serotipos que no estaban incluidos dicha vacuna. Por esta razón, las vacunas conjugadas (PCV10 y PCV13) han sido diseñadas y elaboradas según sea la prevalencia de los serotipos de *S. pneumoniae* causantes tanto de ENNI y ENI (Echániz *et al.*, 2015).

Debido a la variabilidad en la distribución de serotipos que puede haber en cada país, es de suma importancia conocer cuales serotipos son más predominantes en cada región y así poder evaluar el impacto que han tenido las vacunas antineumocócicas en la población. Dichos datos podrían ser de importancia para la formulación de nuevas vacunas y la toma de decisiones a nivel clínico.

## II. MARCO TEÓRICO

### I.1 Epidemiología

*S. pneumoniae* se encuentra como parte de la microbiota en las vías respiratorias altas y, en algunas ocasiones, es capaz de producir enfermedades que afectan al aparato respiratorio, tanto superior como inferior. Es el principal agente etiológico en infecciones no invasoras: otitis media aguda y sinusitis aguda; en infecciones invasoras: neumonía, meningitis, septicemia y bacteremia; y más raramente artritis, endocarditis y peritonitis (Álvarez de Luna *et al.*, 2005).

La susceptibilidad a las infecciones neumocócicas es universal; es decir, todas las personas son generalmente susceptibles a las infecciones causadas por este agente. Sin embargo, algunas condiciones aumentan la susceptibilidad a esta bacteria: enfermedades crónicas como diabétes, cáncer, insuficiencia renal, hacinamiento, pobreza, exposición activa o pasiva al humo de tabaco e infecciones concurrentes del tracto respiratorio superior. La infección neumocócica es más frecuente entre las edades de dos meses y tres años, aunque disminuye después de los 18 meses. El riesgo aumenta nuevamente después de los 65 años. Entre las causas de muerte por infección neumocócica, la neumonía representa el 81% y la meningitis el 12% (Organización Panamericana de la Salud PAHO/WHO, 2016). La neumonía es la principal causa individual de mortalidad infantil en todo el mundo. Se calcula que fue la causa de muerte de 920,136 niños menores de cinco años en 2015, lo que supone el 15% de todas las defunciones de niños menores de cinco años (De la Osa *et al.*, 2017).

Este patógeno se transmite por vía aérea, significando un riesgo mayor las núcleo-gotitas de  $<10\ \mu\text{m}$  que permanecen en suspensión más de 30 minutos y alcanzan fácilmente el alvéolo con riesgo de producir infección del parénquima pulmonar. Su cápsula polisacáridica le permite evadir la fagocitosis, con riesgo de invasividad, lo que ocurre en niños con cierta frecuencia en forma sinérgica con infecciones virales respiratorias. Los virus respiratorios ejercen un efecto citopático sobre los cilios de la mucosa respiratoria

destruyéndola o alterando su código genético. La alteración de los mecanismos de barrera en esta situación favorece el incremento de los inóculos de *S. pneumoniae* en niños previamente colonizados (Ruvinsky, 2001).

## **I.2 Generalidades**

*S. pneumoniae* pertenece a la familia Streptococcaceae, género *Streptococcus*, especie *pneumoniae*. Es un coco Gram positivo, capsulado. Las células bacterianas tienen una forma lanceolada, miden 0.5 a 1.2  $\mu\text{m}$  de diámetro y se disponen en pares o diplos (Prado, 2001). Estas bacterias no forman esporas ni tienen movilidad y al igual que otros estreptococos, no producen catalasa y fermentan la glucosa produciendo ácido láctico.

Presentan tres cubiertas principales: membrana plasmática, pared celular típica de los Gram positivos y cápsula. La pared está constituida por el peptidoglucano, polisacáridos complejos (ácido teicoico rico en residuos de galactosamina, fosfato y colina), ácido lipoteicoico y proteínas. En la pared celular de *S. pneumoniae* existen dos formas de ácido teicoico: uno expuesto sobre la superficie celular (sustancia C) que es específico de especie y el otro unido de forma covalente a los lípidos de la membrana plasmática. La cápsula es la cubierta de mayor espesor, está compuesta de polisacáridos y en su estructura se basa la clasificación serológica (Castro, 2014).

Son bacterias anaerobias facultativas. Para su crecimiento y multiplicación tienen requerimientos específicos, como aportes de proteínas y suplementos hematológicos, por lo que es considerada una bacteria fastidiosa (Prado, 2001).

### **Cultivo**

Los medios artificiales que aportan los nutrientes necesarios para el crecimiento de *S. pneumoniae* son medios enriquecidos como agar soya tripticasa o agar infusión cerebro/corazón con adición de 10% de sangre de cordero. Carece de la enzima catalasa, la cual debe ser aportada en forma exógena; en la práctica es proporcionada por la sangre (Prado, 2001). Existen numerosas bases comerciales que pueden ser usadas

para preparar los medios enriquecidos con sangre, las más conocidas son: Columbia y tripticasa soya. Paralelamente existen caldos de cultivo que favorecen la buena recuperación de *S. pneumoniae*, como el caldo Todd Hewitt, BHI (Brain Heart Infusion, por sus siglas en inglés) y el caldo enriquecido de tioglicolato. Para un óptimo crecimiento de *S. pneumoniae* en medios líquidos, es importante que los medios utilizados sean caldos suplementados con carbohidratos fermentables (Instituto Nacional de Salud, 1994). El crecimiento y desarrollo bacteriano se ve facilitado en un ambiente con 5 a 7% de CO<sub>2</sub>, temperatura que va de 30 a 36°C, a un pH ideal de 7.8 y una incubación de 18 a 24 horas.

En los medios de cultivo antes señalados este patógeno crece formando colonias redondas, mucosas y grisáceas, de 1 a 3 mm de diámetro, las cuales al cabo de 48 horas presentan un aspecto umbilicado con una depresión central producida por una autólisis celular progresiva. En estos medios con sangre, las colonias producen una  $\alpha$  hemólisis, es decir, digestión parcial de la hemoglobina y la colonia se rodea de un halo verdoso (Instituto Nacional de Salud, 1994).

Cabe mencionar que la morfología colonial también puede depender de la cápsula del microorganismo. Si bien, las cepas con cápsulas mayores presentan colonias grandes, grisáceas, de varios milímetros de diámetro y con apariencia mucóide (como es el caso del serotipo 3) (Ovalle, 2007).

### **Identificación**

Los criterios para identificar a los neumococos incluyen la prueba de solubilidad en bilis y la de sensibilidad a la optoquina, previa realización de frotis al Gram y observación de la actividad hemolítica de las colonias (Ovalle, 2007). La susceptibilidad a la optoquina es un pilar para la identificación de neumococos debido a la facilidad de realización de la prueba, cuya base es la inhibición de la optoquina de la ATPasa neumocócica, característica que generalmente no comparten los *Streptococcus viridians* (Brown *et al.*, 2015). La prueba de optoquina se realiza en placas de agar sangre de cordero (5%) a las cuales se agrega un disco impregnado con la con 5  $\mu$ g de optoquina (disco P) previa

siembra del microorganismo en forma masiva. El cultivo se incuba a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub> y se examina después de 18 a 24 horas, después de las cuales se realiza la lectura correspondiente: los neumococos se habrán lisado en la cercanía del disco, creándose una zona de inhibición alrededor de él. Se debe observar un halo de inhibición del crecimiento (dependiendo del disco comercial) > a 14 mm si es BBL o >16 mm si es Oxoid (Ovalle, 2007).

La especificidad de la prueba de solubilidad biliar sigue siendo alta, y es la única prueba más específica para la identificación de *S. pneumoniae* (Brown *et al.*, 2015). Esta prueba diferencia *S. pneumoniae* (positivo) de los estreptococos alfa-hemolíticos (negativos). La bilis o una solución de una sal biliar, como desoxicolato de sodio, lisa con rapidez las colonias de los neumococos. La lisis depende de la presencia de una enzima autolítica intracelular (N-acetilmuramil-L-alanina amidasa codificada por el gen *lytA*). Las sales biliares disminuyen la tensión superficial entre la membrana de la célula bacteriana y el medio de cultivo, lo que acelera el proceso autolítico natural del microorganismo (Forbes *et al.*, 2007). La prueba se realiza agregando una solución de sales biliares a un cultivo líquido o a una placa con el microorganismo problema. En el caso del cultivo líquido, se agrega una solución de sales biliares al 10%, se incuba por un periodo mínimo de 30 minutos a 35-37°C y se observa comparándose contra un tubo control: el resultado se considera positivo cuando desaparece la turbidez del cultivo (Ovalle, 2007).

Si los resultados obtenidos con la prueba de optoquina fueron positivos (halo de inhibición >14) y además se solubiliza en presencia de sales biliares a una concentración de 10%, esta cepa se identifica como *S. pneumoniae*.

### **Serotipificación**

La serotipificación de *S. pneumoniae* se realiza por la reacción de Quellung, es el estándar de oro que se utiliza tradicionalmente para tipificar aislamientos de neumococo y fue descrita por Neufeld en 1902. El método implica probar una suspensión de células neumocócicas con antisueros específicos dirigidos contra el polisacárido capsular.

Una vez que el asilamiento bacteriano se identifica como un neumococo, se analiza secuencialmente con grupos de antisueros (*Pool*) hasta que se observa una reacción positiva, cada *pool* de antisueros contiene diferentes mezclas de anticuerpos para los 91 serotipos neumocócicos (Habib *et al.*, 2014).

### **I.3 Factores de virulencia**

La virulencia de *S. pneumoniae* es atribuible fundamentalmente a su capacidad para resistir la opsonización, la fagocitosis y la destrucción intracelular de las células fagocíticas (Figura 1) (Winn *et al.*, 2006).

#### ➤ **Cápsula polisacárida**

La cápsula es el factor de virulencia más importante, ya que las cepas capsuladas dificultan la fagocitosis y determina la capacidad diferencial de los serotipos para sobrevivir en el torrente circulatorio y la posibilidad de causar enfermedad. Hay serotipos de neumococo que permiten la degradación de componentes de C3b del complemento en iC3b y C3d, esto evita la opsonización del microorganismo y lo hace más resistente a la fagocitosis (Castro, 2014).

Los polisacáridos capsulares en *S. pneumoniae* están compuestos por polímeros largos de unidades repetidas formadas por dos a siete monosacáridos, algunos de los cuales pueden estar en cadenas largas o ramificadas. Estos polímeros se sintetizan por el agregado de porciones de hidratos de carbono al extremo proximal de la cadena y la mayoría de los tipos están fijados al peptidoglucano y al polisacárido C de la pared (Winn *et al.*, 2006).

#### ➤ **Pared bacteriana**

La pared celular de *S. pneumoniae* cuenta con una fosforilcolina en el ácido teicoico y el ácido lipoteicoico, que tiene la importancia de contribuir en la respuesta del huésped a la infección asociándose con la inflamación aguda (Aguirre, 2013). Durante la lisis bacteriana estos activan la vía alterna del

complemento, lo que estimula a su vez, la producción de citosinas dando como resultado fiebre y shock séptico (Instituto Nacional de Salud, 1994).

➤ **Neumolisina**

Es una proteína que pertenece a la familia de toxinas tiol-activadas y se encuentra en el citoplasma bacteriano. Cuando el microorganismo sufre lisis por acción de la enzima autolisina, la neumolisina es liberada. A altas concentraciones de oligómeros de neumolisina son depositados sobre las membranas de las células del hospedero, formando poros y produciendo lisis celular. Además, la neumolisina destruye los cilios de las células epiteliales respiratorias humanas, rompe las monocapas de células epiteliales del aparato respiratorio superior, así como de los alveolos, disminuye la actividad bactericida, la migración de neutrófilos y activa la vía clásica del complemento (Castro, 2014).

➤ **Neuraminidasa**

La adherencia del neumococo al epitelio nasofaríngeo se favorece por la producción de neuraminidasa, la cual rompe el ácido siálico que forma parte del tejido conectivo del hospedero y permite la exposición de receptores, favoreciendo la adherencia (Castro, 2014).

➤ **Autolisina**

La enzima N-acetil-murámico-alanina amidasa es localizada en la pared celular y se encuentra unida a la colina presente en el ácido lipoteicoico de la membrana celular. De esta manera, la autolisina es inactiva, pero puede activarse mediante la autólisis celular cuando el neumococo se encuentra en la fase estacionaria de crecimiento o cuando entra en contacto con antibióticos tales como la penicilina. Su papel en la patogénesis sería generar productos de degradación de la pared celular con propiedades inflamatorias (Ovalle, 2007).

➤ **Proteasa para IgA**

Las proteasas para IgA son enzimas extracelulares que causan infección en mucosas de los humanos. La IgA proteasa contrarresta el mecanismo de defensa de mucosa: rompe la IgA a nivel de la bisagra (Castro, 2014).

➤ **Hialuronidasa**

Enzima que degrada el ácido hialurónico, facilitando la propagación de los microorganismos en el tejido conectivo del hospedero (Jimenez, 2003).

➤ **Proteína de superficie PspA**

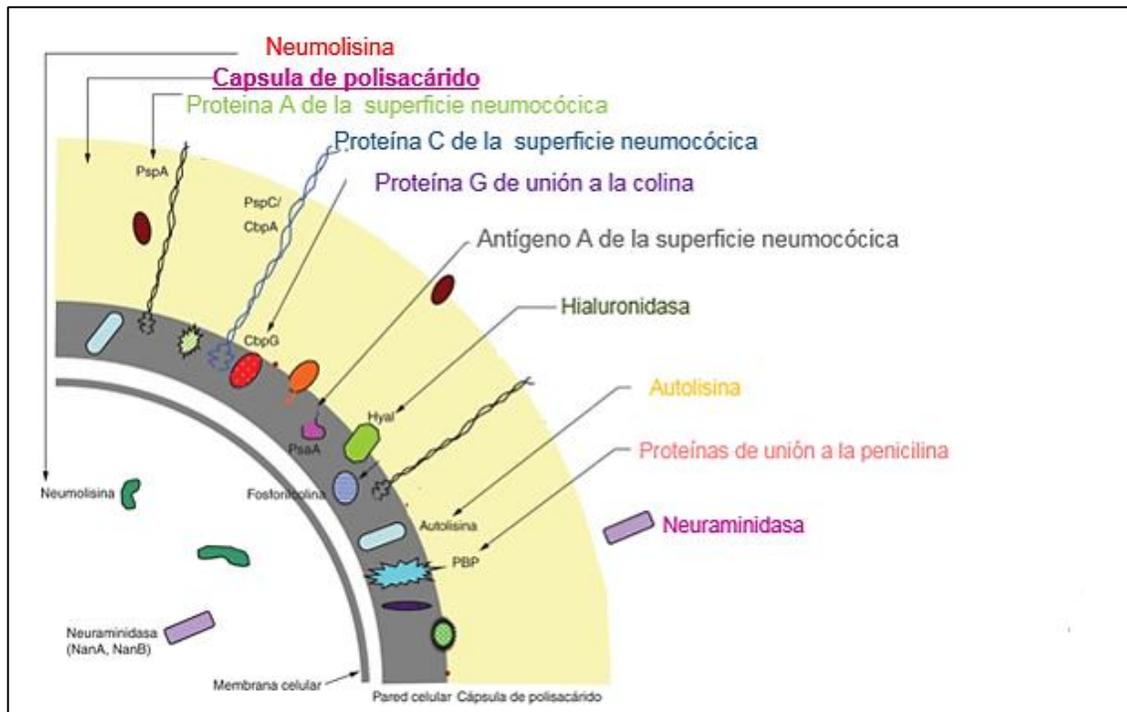
Está localizada en la superficie celular del neumococo, la cual participa en su adherencia a la célula huésped causando daño a los cilios del epitelio (Mejia, 2011). Esta proteína presenta una gran variabilidad estructural y antigénica entre las diferentes cepas neumocócicas y se localiza en la mayoría de los cultivos clínicos del microorganismo. Se sugiere que esta molécula aumenta la virulencia de *S. pneumoniae*, inhibiendo la activación del complemento (Ovalle, 2007).

➤ **Proteína de superficie PspC**

Esta proteína es parte de un grupo de 12 distintas proteínas que se encuentran en la superficie celular. Interactúa con la vía del complemento uniéndose a C3 y al factor H, promueve la adherencia de *S. pneumoniae* a células activadas por citosinas, parece jugar un papel importante sobre las superficies mucosas y participa en la colonización neumocócica de la nasofaringe (Ovalle, 2007).

➤ **Peróxido de Hidrogeno**

La producción neumocócica de peróxido de hidrogeno ejerce efectos tóxicos sobre las células epiteliales y puesto que la cantidad de este oxidante es similar a la producida por neutrófilos activados, se ha inferido su importante participación en la patogénesis del daño pulmonar *in vivo* (Ovalle, 2007).



**Figura 1.** Factores de virulencia de *S. pneumoniae* (Figura modificada de Kasper *et al.*, 2017).

#### I.4 Susceptibilidad y resistencia antimicrobiana

El incremento de la resistencia de *S. pneumoniae* a los antibióticos que se ha producido en los últimos años ha dado lugar a un renovado interés por este microorganismo causante de numerosas infecciones localizadas preferentemente en el tracto respiratorio, desde su descubrimiento hace más de un siglo (Ruiz *et al.*, 2001).

El uso de antibióticos contribuye a la resistencia antimicrobiana de diferentes maneras: el efecto selectivo simultáneo (el tratamiento antibiótico elimina patógenos susceptibles, mientras que los patógenos resistentes a los antibióticos persisten y se propagan), el efecto competitivo posterior (microorganismos oportunistas y resistentes a los medicamentos podrían llenar el vacío que aparece después de la erradicación antibiótica de patógenos y otros microorganismos comensales) y la transferencia horizontal de genes (transferencia de genes de resistencia a antibióticos a otras bacterias); este último factor es importante en *S. pneumoniae* porque este microorganismo es naturalmente

transformable, por lo tanto capta ADN exógeno y lo integra en su cromosoma (Cillóniz *et al.*, 2016).

Los métodos de referencia aceptados por CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), para determinar la susceptibilidad de *S. pneumoniae* frente a los antibióticos pueden clasificarse en métodos cuantitativos y cualitativos, Los métodos cuantitativos son aquellos procedimientos que permiten determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI). Se define CMI como la mínima concentración de antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes). La determinación de la CMI puede realizarse por micro o macro dilución en caldo, dilución en agar o E-test (marca comercial). Los métodos cualitativos (disco difusión) son aquellos procedimientos que permiten clasificar directamente a un microorganismo como sensible o resistente, sin embargo, tiene el inconveniente de que no determina la CMI (Taroco *et al.*, 2006).

#### ➤ **Resistencia a $\beta$ -lactámicos**

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos se unen a las enzimas que sintetizan la pared celular (llamadas proteínas de unión a la penicilina, PBP) e interfieren con la biosíntesis y la remodelación de la pared celular del neumococo durante el crecimiento y la división celular. El principal mecanismo de resistencia a la penicilina es la alteración en uno o más PBP, que disminuye la afinidad por la penicilina. Aunque se han identificado varias PBPs en el neumococo, PBP1a, PBP2x y PBP2b tienen un papel principal en la resistencia a  $\beta$ -lactámicos. La resistencia a los  $\beta$ -lactámicos en los neumococos es un proceso gradual, mientras que a más mutaciones en PBP, más altos son los niveles de resistencia a la penicilina (Cillóniz *et al.*, 2016).

#### ➤ **Resistencia a macrólidos**

Los macrólidos se unen a una subunidad ribosómica, lo que inhibe el inicio de la unión del ARNm y, por lo tanto, inhibe la síntesis de proteínas.

Hay dos formas predominantes en las que el neumococo adquiere resistencia a los macrólidos. La primera es a través del mecanismo de expulsión del antibiótico por bombas de eflujo codificado por los genes *mef* (confieren resistencia a los macrólidos de 14 miembros y 15 miembros, conocido como fenotipo M) con CMI más bajas (en comparación con las del gen *erm*). El segundo mecanismo es la metilación de dos adeninas del sitio E de la región 23S rRNA por metilasas codificadas por los genes *erm* (confiere resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas, conocido como fenotipo MLSB) con CMI muy altas (Cillóniz *et al.*, 2016).

### ➤ **Resistencia a fluoroquinolonas**

La resistencia a las fluoroquinolonas en los neumococos es gradual y está relacionada con los cambios de aminoácidos en la ADN girasa y la topoisomerasa IV, que son el objetivo de estos agentes antibacterianos. Para la mayoría de las fluoroquinolonas, como ciprofloxacina y levofloxacina, el objetivo primario es topoisomerasa IV (ParC y ParE), lo que confiere un bajo nivel de resistencia, mientras que los cambios adicionales en GyrA (objetivo secundario) confieren un alto nivel de resistencia. Sin embargo, la ADN girasa es el objetivo principal de moxifloxacina. La sobreexpresión de algunas bombas de eflujo que afectan a las fluoroquinolonas puede complementar las mutaciones mencionadas anteriormente como un mecanismo de resistencia a estos agentes antibacterianos (Cillóniz *et al.*, 2016).

## **I.5 Serotipos**

*S. pneumoniae* se divide en más de 90 serotipos (97) en base a la composición de la cápsula, pero solo unos pocos van a ser responsables de la mayoría de los casos de Enfermedad Neumocócica Invasiva (ENI). La frecuencia de aislamiento de cada serotipo va a depender de la edad, la presentación clínica, el área geográfica y el tiempo. Diferentes estudios muestran la asociación de los factores de riesgo, comorbilidad y letalidad con los diferentes serotipos (Méndez *et al.*, 2015).

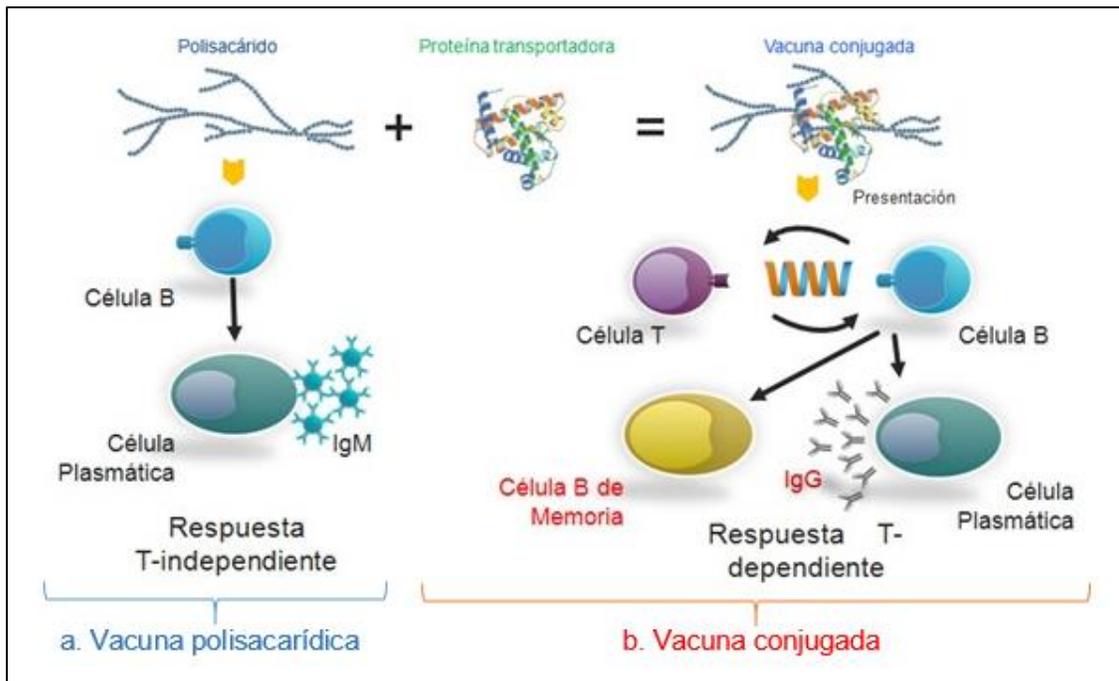
*S. pneumoniae* continúa siendo un microorganismo que con mayor frecuencia se aísla en niños con enfermedad invasora, tanto en países industrializados como en países en vías de desarrollo. Esto se ha hecho más notorio luego de que *S. pneumoniae* ocupara el nicho ecológico dejado por *Haemophilus influenzae* a partir de la inclusión, en la mayoría de los países, en la vacuna contra esta bacteria dentro de sus programas de inmunización obligatoria. Al mismo tiempo que continúa siendo una bacteria de frecuente aislamiento, su capacidad de resistencia a los antibióticos se ha convertido en un verdadero problema de salud pública mundial (Echeverri y Giraldo, 2006).

Después del inicio de la vacunación en la infancia con la vacuna conjugada 7-valente (PCV7) se evidenció una gran reducción de los serotipos vacúnales en adultos, reflejando que los niños son el reservorio y el vector de la ENI en adultos y que la vacuna proporciona inmunidad de escala mundial (Méndez *et al.*, 2015).

## **I.6 Vacunas neumocócicas**

Existen dos tipos de vacunas frente al neumococo: las que contienen los polisacáridos puros y las que contienen los polisacáridos capsulares conjugados a una proteína acarreador. Por ser antígenos T-independientes, las vacunas que contienen polisacáridos puros no inducen memoria inmunológica ni respuestas secundarias de anticuerpos y son poco inmunógenas por debajo de los dos años de edad. Esto es debido a que las células B reconocen el antígeno a través del receptor de células B, ésta interacción es suficiente para desencadenar la expansión clonal de las células B y la producción de anticuerpos. Las respuestas de anticuerpos están dominadas por la producción de IgM, y no se produce maduración por afinidad de anticuerpos o producción de células B de memoria (Figura 2). Por otra parte, la administración repetida de estas vacunas conduce a una disminución en la respuesta de anticuerpos (tolerancia), aunque este hecho ha sido cuestionado recientemente. Las vacunas conjugadas contienen antígenos T-dependientes, inducen memoria inmunológica y dan lugar a respuestas secundarias de anticuerpos (mucho más rápidas, con títulos mucho más elevados y con mayor avidéz y afinidad por el antígeno). Esta respuesta es provocada cuando las células B reconocen

el antígeno de polisacárido a través del receptor de células B al mismo tiempo que absorben la proteína transportadora, la procesan y la presentan a las células T. Las células T proporcionan la coestimulación necesaria para el cambio de la clase de anticuerpos, la maduración por afinidad y la generación de células B de memoria (Figura 2). Además, son inmunógenas desde los primeros meses de vida y generan inmunidad en las mucosas, disminuyendo el estado de portador nasofaríngeo (Comité Asesor de Vacunas de la AEP, 2016).



**Figura 2.** Diferencias en la respuesta inmune entre vacunas polisacarídicas y vacunas conjugadas (Redondo, 2016).

### Vacunas constituidas por polisacáridos capsulares

Desde 1977 se desarrolló una vacuna compuesta de 14 polisacáridos con fines preventivos ante la enfermedad neumocócica, presentando una eficacia de 60 a 70% en términos de reducción de episodios de bacteremia neumocócica, sin embargo, la información sobre la respuesta de anticuerpos fue limitada y no existían estudios de correlación clínica o microbiológica con los datos inmunológicos. En 1983 se introdujo en el mercado estadounidense la vacuna antineumocócica polisacarídica 23-valente 23PPV (*Pneumovax 23®*) compuesta de los polisacáridos capsulares de los 23 serotipos de

*Streptococcus pneumoniae* aislados más frecuentemente en pacientes con enfermedad neumocócica; siendo los siguientes: 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F Y 33F. La inmunogenicidad de esta vacuna en adultos sanos se ha estimado en 80% con un incremento de anticuerpos de dos o superior al del título basal y la mayoría de los anticuerpos persisten elevados durante cinco años o más. Por el contrario, el uso de esta vacuna en niños sanos suele inducir una respuesta inmune baja, la cual está condicionada por la edad del niño (Villena, 2017). En México, la PPV23 está dentro del esquema de vacunación para la población de 60 a 64 años con factores de riesgo (1 dosis inicial y 1 revacunación única) y para toda la población de 65 años de edad (1 dosis única) (Secretaría de Salud, 2015).

### **Vacunas conjugadas**

Desde 1929, Avery y colaboradores demostraron que la unión covalente de polisacáridos capsulares a una proteína aumenta la inmunogenicidad de los polisacáridos. Las proteínas que han demostrado ser buenas compañías inmunocompetentes son: la proteína de *H. influenzae* tipo b, el toxoide tetánico, toxoide diftérico y la proteína de membrana exterior del meningococo del grupo B. En la vacuna conjugada, la proteína actúa como un interruptor que induce una respuesta timo-dependiente, lo que conlleva a la inducción de células B de memoria, dando como resultado una mayor respuesta inmunológica en infantes debida a la maduración progresiva del sistema inmunológico humano (Köhler, 2014).

En el año 2000 fue administrada la vacuna antineumocócica conjugada 7-Valente PCV7 (*Prevenar 7*®), en la que se incluyen los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F, conjugada con la proteína transportadora CRM<sub>197</sub>, su efectividad en la prevención de enfermedad neumocócica invasiva es de 98% para cada uno de los serotipos incluidos. El primer país en adoptar esta vacuna fue Estados Unidos de América. La vacuna PCV7 reduce la colonización nasofaríngea debido a la producción de inmunidad de grupo, de esta manera, proporciona una disminución en el número de portadores. En México, esta vacuna se administró por primera vez a grupos seleccionados de niños de alto riesgo en 2006 y luego se incorporó al programa nacional de vacunación en 2008. En la práctica

privada, se aplican tres dosis más un refuerzo (a los dos, cuatro, seis y 12 meses), mientras que el Programa Nacional de Vacunas incluye dos dosis primarias a los dos y cuatro meses de edad y un refuerzo a los 12 meses de edad (Echániz *et al.*, 2015).

*Synflorix*<sup>®</sup> es una vacuna 10-valente que incluye tres serotipos adicionales a los de *Prevenar 7*<sup>®</sup> (1, 5 y 7F), y utiliza la proteína D de *H. influenzae* no tipificable para conjugar ocho de los 10 serotipos incluidos. Está indicada para la inmunización activa frente a ENI y OMA causadas por *S. pneumoniae* en lactantes y niños a partir de seis semanas de edad y hasta los dos años de edad (Morano *et al.*, 2011).

La inmunogenicidad es similar a la heptavalente: protege contra infecciones por neumococo (serotipos de la vacuna), incluidas las invasivas. Además, obtendría una respuesta importante contra la otitis media provocada por neumococos (Morano *et al.*, 2011). En México, durante el período de 2008 a 2010, PCV10 se introdujo en un programa de tres dosis a la población pediátrica asegurada por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), que cubre la mitad de la población (Soto *et al.*, 2016).

En 2010, se autorizó una vacuna antineumocócica conjugada 13 valente PCV13 (*Prevenar 13*<sup>®</sup>) en los Estados Unidos de América. Contiene los siete serotipos de la vacuna PCV7 más los serotipos 1, 3, 5, 6A, 7F y 19A que también están conjugados con CRM<sub>197</sub> (Comité Asesor de Vacunas de la AEP, 2016).

Los datos de ABCs (Active Bacterial Core surveillance) indican que, en 2008, antes de que PCV13 reemplazara a PCV7 para uso rutinario entre niños, aproximadamente el 61% de los casos de enfermedad neumocócica invasiva en niños menores de cinco años eran atribuibles a los serotipos incluidos en PCV13, correspondiendo el serotipo 19A al 43% de los casos (Moore y Pilishvilli, 2015).

En México, desde el 2011, PCV13 se encuentra incluida en el Programa Nacional de Vacunación y se ha aplica en infantes con 3 dosis a los dos, cuatro y 12 meses de edad (Soto *et al.*, 2016). En diciembre de 2011, la Administración de Alimentos y Medicamentos

en Estados Unidos aprobó la PCV13 como una dosis única para la prevención de la neumonía y la enfermedad invasiva causada por los serotipos vacunales de *S. pneumoniae* en personas de 50 años o más (Moore y Pilishvili, 2015).

### III. ANTECEDENTES

*Streptococcus pneumoniae* causa enfermedad neumocócica invasiva (IPD) (neumonía bacteremia, septicemia, meningitis) y no invasiva (NIPD) (otitis media, sinusitis, conjuntivitis, artritis, etc.), principalmente en la población pediátrica y adultos mayores (Soto *et al.*, 2016).

En Japón, Nakano *et al.*, realizaron un estudio de vigilancia de los serotipos, susceptibilidad antimicrobiana y epidemiología molecular de aislados de *S. pneumoniae* invasivos y no invasivos en pacientes pediátricos después de la introducción de la vacuna conjugada 13 valente. Se recolectaron 343 aislamientos con IPD y 286 aislamientos no IPD. De los aislamientos de IPD, los serotipos identificados más comunes incluyeron 19A, 24F y 15A. La prevalencia de aislamientos de serotipos no incluidos en la PCV13 aumentó significativamente entre 2012 y 2014 (51.6-71.4%,  $p=0.004$ ). Los serotipos 19A, 15A y 35B no fueron susceptibles a penicilina. De los aislamientos no IPD, los serotipos más identificados incluyeron 19A, 15A y 3 (Nakano *et al.*, 2016).

En Corea, Hyun y colaboradores durante el periodo 2008-2014, analizaron la distribución de serotipos y resistencia a los antimicrobianos de 378 aislamientos de *S. pneumoniae* causantes de enfermedades neumocócicas invasivas y no invasivas en pacientes adultos. Los serotipos/serogrupos comunes fueron: 3 (13.5%), 35 (10.8%), 19A (9.0%), 19F (6.6%), 6A (6.1%) y 34 (5.6%). Se observó resistencia a múltiples fármacos (MDR) en 34.7% de los aislamientos de *S. pneumoniae*, principalmente en los serotipos 19A y 19B. La tasa de resistencia a la levofloxacina aumentó significativamente (Hyun *et al.*, 2016).

Houri *et al.*, en el 2017 reportaron la distribución de serotipos de *S. pneumoniae* y patrones de resistencia de aislamientos invasivos pediátricos en Teherán Irán. El serotipo más frecuente fue el 23F (24.5%), seguido de los serotipos 19F (18.9%), 19A (7.5%) y 9V (7.5%). El 21% de los aislados neumocócicos no fueron sensibles a penicilina y el

serotipo 19A se asoció significativamente con la resistencia a la penicilina (Hourí *et al.*, 2017).

Mendes *et al.*, reportaron la distribución de serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de aislados de *S. pneumoniae* en EE. UU., antes y después de la introducción de la vacuna antineumocócica conjugada 13 valente, encontrando el serotipo 19F en un 3.7% y 6B en 4.0% de todos los aislados de ambos periodos. Los serotipos de PCV13 representaron el 42.9% de los aislados en 2008 y el 30.1% en el segundo periodo, y esta disminución fue impulsada por 19A y 7F; los serotipos no incluidos en PCV13 (23A, 15B/15C, 7C, 8 y 31) aumentaron. El porcentaje de no sensibilidad a la penicilina fue de 9.6-10.0%. También se observaron variaciones en el porcentaje de susceptibilidad entre serogrupos/ tipos a eritromicina y TMP/SMX (Mendes *et al.*, 2014).

El Consenso de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica (SLIPE) sobre Epidemiología del Neumococo en Latinoamérica cuyo propósito fue obtener información epidemiológica para la estimación de la carga de estas enfermedades, la distribución de los serotipos y la susceptibilidad del neumococo a los antibióticos en la Región de las Américas y el Caribe, reportó que entre los años 1993-1999 se obtuvieron 4,105 aislamientos de neumococo procedentes de líquidos estériles, de los que 31 aislamientos (0.76%) no pudieron tipificarse y 4,071 (92%) sí se tipificaron y se distribuyeron en 54 tipos capsulares. Entre 81.4 y 88.6% de los aislamientos se agruparon en 13 serotipos. Los serotipos 14, 6A, 6B, 5, 1 y 7F fueron los cinco predominantes en el Cono Sur (Argentina, Chile y Uruguay), el serotipo 23F ocupó el tercer lugar en Colombia, el segundo lugar en México, Perú y República Dominicana. En un análisis de asociación se encontró que 86.2% de los casos de neumonía, 78.3% de meningitis y 76.9% de bacteremia o sepsis fueron causados por 11 tipos capsulares con variaciones de prevalencia en los diferentes países (Macías *et al.*, 2012).

En el mismo reporte, se observa que durante el periodo 2000 y 2005 se evaluaron 17,303 aislamientos procedentes de 20 países, con mayor proporción de niños menores de seis años con diagnósticos de meningitis y neumonía. Se demostró que la mayor parte de la

patología se concentra en 13 serotipos (1, 3, 4, 5, 6A, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19A, 19F, 23F). A partir del año 2006 el SIREVA II reporta anualmente los aislamientos del neumococo (Macías *et al.*, 2012).

En el año 2009 se registraron 3,297 aislamientos en los países ya mencionados y se puede observar que las patologías por grupos de edad y la prevalencia de los diferentes serotipos en ese año muestran una distribución similar a la encontrada en el periodo 2000-2005 (Macías *et al.*, 2012).

De los 93 serotipos que se habían identificado hasta ese momento, 13 son los que causaban 86% de las infecciones en América Latina. En niños menores de 5 años, el serotipo 14 fue el más frecuente y representó 30.4% de los aislamientos, seguido del 6B (8.6%) y del 1 (7.3%) como se observa en la Tabla 1. En Cuba y Venezuela se observó un predominio del serotipo 6B, Guatemala el 9B, México el 19F y Uruguay el 5, en el resto de los países estudiados predominó el serotipo 14 (Tabla 1). En Chile hubo incremento del serotipo 1 de 6.7% reportado en el 2005 a 10.6% en el informe de 2009 y en México el aumento de los serotipos 19A, de 6.4 a 12.3% y del serotipo 6A de 4.1 a 8.5% reportados en el periodo 2000-2005 en relación con el año 2009, respectivamente (Macías *et al.*, 2012).

**Tabla 1.** Distribución en Latinoamérica de serotipos de neumococo en niños menores de cinco años SIREVA II 2009 (Macías *et al.*, 2012).

Serotipo	1	3	4	5	6A/6C	6B	7F	9V	14	18C	19A	19F	23F	Otros	Total
Argentina	37	9	0	22	7	11	7	10	57	5	10	6	5	34	220
Bolivia	2	0	0	1	1	5	1	0	5	0	0	1	0	10	26
Brasil	3	5	4	4	12	21	6	5	78	8	6	13	7	24	196
CAREC	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	4
Chile	34	8	2	9	23	22	13	5	110	15	17	13	14	36	321
Colombia	3	6	3	1	4	10	3	2	42	5	5	4	5	9	102
Costa Rica	0	2	0	0	0	1	0	0	5	0	1	3	0	3	15
Cuba	0	1	0	0	2	5	0	0	4	0	2	0	0	2	16
Ecuador	1	4	0	1	2	3	1	4	15	0	2	3	3	3	42
El Salvador	0	2	0	0	0	0	1	0	3	2	2	2	2	1	15
Guatemala	0	0	0	0	0	0	2	4	1	0	3	0	1	1	12
México	0	4	0	3	9	8	1	4	8	3	13	23	9	20	105
Nicaragua	0	0	0	0	2	1	0	0	2	0	1	1	0	4	11
Panamá	1	0	1	1	3	5	0	0	7	2	3	2	2	4	31
Paraguay	3	1	2	0	1	5	2	0	33	0	1	1	0	8	57
Perú	0	1	0	0	1	4	0	0	8	0	1	3	1	5	24
República Dominicana	3	2	1	0	4	3	0	2	10	3	1	2	4	9	44
Uruguay	8	0	0	10	3	2	8	1	6	2	3	0	0	9	52
Venezuela	1	1	0	2	0	5	3	1	3	0	3	1	1	0	21
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>46</b>	<b>13</b>	<b>54</b>	<b>74</b>	<b>113</b>	<b>50</b>	<b>36</b>	<b>399</b>	<b>45</b>	<b>74</b>	<b>78</b>	<b>54</b>	<b>182</b>	<b>1314</b>
<b>Porcentaje</b>	<b>7.3</b>	<b>3.5</b>	<b>1</b>	<b>4.1</b>	<b>5.6</b>	<b>8.6</b>	<b>3.8</b>	<b>2.7</b>	<b>30.4</b>	<b>3.4</b>	<b>5.6</b>	<b>5.9</b>	<b>4.1</b>	<b>13.9</b>	<b>100</b>

Por lo que se refiere a la sensibilidad del neumococo a la penicilina en el año 2008 el CLSI cambió los puntos de corte de *S. pneumoniae* para definir resistencia a este antibiótico en los aislamientos meníngeos y no meníngeos, lo que impide comparar el reporte del año 2009 con los reportes previos de sensibilidad a la penicilina. Los nuevos criterios para las cepas meníngeas consideran sensible una concentración mínima inhibitoria (CMI)  $\leq 0.06$  mg/mL y resistente si CMI  $\geq 0.12$   $\mu$ g/mL. Para las no meníngeas son sensibles las que tienen CMI  $\leq 2$   $\mu$ g/mL, intermedias CMI = 4  $\mu$ g/mL y resistentes CMI  $\geq 8$   $\mu$ g/mL (Macías *et al.*, 2012).

En forma global, el 38.3% de las cepas meníngeas de neumococo, en niños menores de cinco años, son resistentes a la penicilina, lo que contrasta con las cepas no meníngeas, que muestran una sensibilidad de 89.2%; el 9% muestra resistencia intermedia y sólo

1.8% resistencia. Esto hace que la penicilina sea el tratamiento de elección para tratar las infecciones neumocócicas fuera del sistema nervioso central.

El serotipo 14 fue el que mostró mayor resistencia a penicilina (80.5%), seguido del 23F (61.5%), 19F (57.1%), 9V (50%), 6B (47.8%) y 19A (42.8%). Estos seis serotipos representan más de 40% de las cepas meníngeas resistentes. Si se analizan los países con más de 10 aislamientos meníngeos, se encuentra que los que tienen mayor porcentaje de resistencia a la penicilina son: México (72.7%) y Bolivia (60%) y los que menos resistencia tienen son Cuba (9%) y Paraguay (10%). Los países con más de 10 aislamientos no meníngeos, con mayor porcentaje de resistencia a la penicilina son: Bolivia (12.5%), México (9.6%) y Ecuador (3%). En cambio, en Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana, Uruguay y Venezuela no presentó aislamientos resistentes a la penicilina (de acuerdo a las modificaciones del CLSI) (Macías *et al.*, 2012).

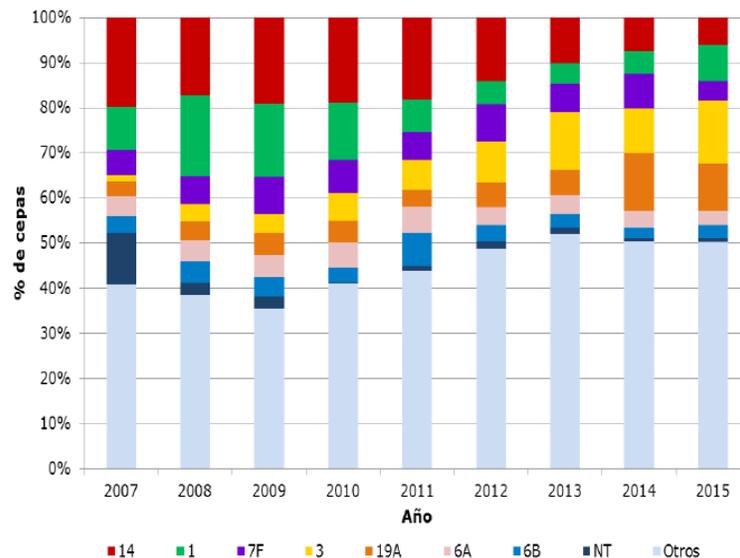
En forma global, el 18.7% de los aislamientos de neumococo fueron resistentes a la eritromicina, con una tendencia ascendente, similar a la observada en el resto del mundo. En Estados Unidos, de 1979 a 1987 se analizaron 5,000 aislamientos de neumococo y se encontró resistencia a eritromicina de 0.3%, que se incrementó a 23% en el periodo 1990-1999 y a 28.9% en 2004. La resistencia a eritromicina varía en los diferentes países analizados, con mayor resistencia en: México (40%), Nicaragua (40%), Costa Rica (33.3%), El Salvador (33.3%) seguido de los países del cono sur: Chile (27.4%) y Argentina (26.4%) y de países andinos: Ecuador (26.3%) y Perú (23.3%). Los países con menor resistencia a macrólidos son: Uruguay (4.5%), Paraguay (5.1%), Brasil (6.6%) y Colombia (6.8%).

El neumococo mostró una alta resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol (45.4%), lo que contraindica a este antibiótico como tratamiento empírico para infecciones graves en las que el neumococo es el microorganismo predominante. En México, la resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol es aún mayor (66.5%), por este motivo hoy día no es un antibiótico recomendado para el tratamiento empírico de enfermedades en donde el

neumococo pueda ser la causa. Todos los aislamientos de neumococo en el continente son sensibles a vancomicina (Macías *et al.*, 2012).

Por otra parte, Los datos publicados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en el año 2013, indican que la neumonía está dentro de las tres primeras causas de morbilidad y mortalidad, y que *S. pneumoniae* sigue siendo el agente prevalente en la región y con la tasa de mortalidad más alta. De hecho, la mortalidad por meningitis neumocócica se puede estimar hasta en 60% en toda la región. Los diferentes serotipos de *S. pneumoniae* muestran diversos patrones de susceptibilidad y muchos son resistentes a los antimicrobianos comúnmente prescritos (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

Durante el periodo de 2007 a mayo 2015, en Chile, el Instituto de Salud Pública de Chile, analizo un total de un total de 6,398 cepas provenientes de casos de ENI, de las cuales, los serotipos prevalentes fueron 14, 1 y 7F, con porcentajes de 23.5%, 13.5% y 7.2% respectivamente y los serotipos 3, 19A y 6A con porcentajes menores (Figura 3).



**Figura 3.** Distribución porcentual de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* de ENI por año en Chile, 2007-2015 (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

Se observó un predominio del serotipo 14 en los años 2007, 2009, 2010, 2011 y 2012 respecto a los otros serotipos, mientras que en el 2008 el serotipo 1 fue el más frecuente, en 2013 el serotipo 3 y 2014 el serotipo 19A. En el año 2014 se observó el predominio de los serotipos 19A y 3, al igual que en el periodo enero a mayo de 2015. En el año 2014 destacó el aumento en la representación porcentual y en el número de cepas de *S. pneumoniae* correspondientes al serotipo 19A, de 6% en el 2013 (39 cepas) al 13% en el 2014 (84 cepas). Además, se observó un aumento de la representación porcentual del serotipo 3 desde el año 2008 en forma gradual (Figura 2) (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

El análisis de susceptibilidad antimicrobiana para las cepas estudiadas, los casos de meningitis tuvieron un porcentaje de sensibilidad a penicilina entre 67 y 78%. En cepas con diagnósticos distintos de meningitis, el porcentaje de sensibilidad a penicilina osciló entre 94 y 99% en todo el periodo.

El porcentaje de cepas sensibles a cefotaxima aisladas de casos de meningitis alcanzó el 96% en el año 2013. En cepas aisladas de diagnósticos distintos a meningitis, el porcentaje de sensibilidad osciló entre 92 y 99% (Tabla 2) (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

**Tabla 2.** Susceptibilidad in vitro a penicilina y cefotaxima en cepas de *S. pneumoniae* en Chile, 2007-2015 (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

Antimicrobiano			2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Penicilina	Meningitis	%S	72%	78%	69%	67%	73%	75%	77%	68%	67%
		%R	28%	22%	31%	33%	28%	25%	23%	32%	33%
		n	109	102	97	105	80	73	84	88	30
	No meningitis	%S	97%	99%	97%	94%	98%	98%	99%	94%	96%
%I		3%	2%	3%	5%	1%	2%	1%	5%	4%	
%R		0%	0%	0%	1%	1%	0%	0%	1%	1%	
	n	776	767	804	670	644	598	611	573	183	
Cefotaxima	Meningitis	%S	90%	93%	89%	89%	86%	95%	96%	89%	90%
		%I	6%	4%	10%	4%	13%	5%	4%	8%	10%
		%R	5%	3%	1%	8%	1%	0%	0%	3%	10%
	n	109	102	97	105	80	73	84	88	30	
No meningitis	%S	96%	98%	98%	92%	98%	98%	99%	94%	96%	
	%I	3%	2%	1%	6%	2%	1%	1%	6%	3%	
	%R	0%	0%	0%	1%	0%	0%	0%	0%	1%	
	n	776	767	804	670	644	598	611	573	183	

Los porcentajes de sensibilidad para eritromicina, levofloxacina y vancomicina de las cepas provenientes de casos de ENI, para cada año del periodo de estudio se mantuvieron relativamente constantes a través del tiempo, para cada uno de los antimicrobianos, con menores niveles de sensibilidad para eritromicina (Tabla 3).

**Tabla 3.** Susceptibilidad in vitro a eritromicina, levofloxacina y vancomicina en cepas de *S. pneumoniae*. Chile, 2007-2015 (Instituto de Salud Pública de Chile, 2015).

Antimicrobiano		2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Eritromicina	%S	73%	73%	72%	69%	64%	71%	75%	70%	71%
	%I	1%	1%	1%	1%	1%	0%	1%	0%	0%
	%R	26%	26%	27%	30%	35%	29%	24%	29%	29%
	n	886	870	901	775	725	671	695	661	213
Levofloxacina	%S	95%	93%	97%	99%	99%	99%	99%	100%	100%
	%I	4%	6%	3%	1%	1%	1%	0%	0%	0%
	%R	0%	1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	n	887	870	901	775	725	671	695	661	213
Vancomicina	%S	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	n	887	870	901	775	725	671	695	661	213

En el 2009, Echániz y colaboradores, como parte del Sistema Regional de Vacunas (SIREVA), realizaron un estudio para determinar la susceptibilidad antimicrobiana y los serotipos capsulares de *S. pneumoniae* invasivo aislados en niños menores de 5 años de la ciudad de México. Se colectaron 220 aislamientos y se encontraron 33 de los 90 serotipos conocidos en ese periodo, siendo más común el serotipo 23F, seguido de los serotipos 6A+B, 14, 19F, y 19A. Una alta resistencia a la penicilina fue encontrada en 49 cepas (22.2%), 31 de estas cepas correspondían al serotipo 23F. Veintinueve cepas (13.1%) fueron resistentes a la eritromicina, 95 (43.1%) fueron resistente al cloranfenicol y 24 (10.9%) fueron resistentes a la cefotaxima. No se encontraron cepas resistentes a vancomicina (Echániz *et al.*, 2009).

Echániz *et al.*, en el 2015 en el grupo SIREVA Network-México, reportaron serotipos de *S. pneumoniae* en niños mexicanos con enfermedad invasiva antes (periodo prevacunal) y después de la introducción de PCV7 (1993-2012). En dicho estudio se colectaron un total de 1,346 aislamientos de *S. pneumoniae*. En el periodo prevacunal los serotipos

incluidos en PCV7 representaron el 59.7% de las cepas, mientras que en 2012 solo el 21% de los casos, con lo cual, se observó una disminución significativa en todos los serotipos incluidos en PCV7. Se detectó un aumento gradual del serotipo 19A durante el período de vacunación del 7% en 2008 al 39% de los aislados en 2012 (Echániz *et al.*, 2015).

Soto *et al.*, en el periodo 2000-2014 determinaron la distribución de los serotipos y la susceptibilidad antimicrobiana de 126 aislamientos clínicos de *S. pneumoniae* causantes de ENI y ENNI en niños de 60 días en hospitales de México. Los serotipos más frecuentes antes de la introducción de la vacuna PCV7 fueron: 19F, 23F, 7F y 35B. Los serotipos 3, 6A, 10A, 12F y 15A/B aumentaron después de la introducción de PCV7. El serotipo 19A se aisló con mayor frecuencia en los casos de neumonía y meningitis solo después de la introducción de PCV7, y mostró una alta resistencia a la penicilina (Soto *et al.*, 2016).

En México, desde 1993, como parte de la Red SIREVA, el INSP realiza la vigilancia de *S. pneumoniae* con el fin de conocer la distribución de los serotipos capsulares y sus patrones de resistencia. Ahora, a través del Grupo Interinstitucional para la Vigilancia de Enfermedades Prevenibles por Vacunación (GIVEBPVac), se continúa la vigilancia. En 2016, el INSP realizó un reporte de serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae*, en el que analizaron 166 aislamientos, de los que, el 40% de ellos fueron de niños menores de 5 años de edad. El principal diagnóstico asociado a los aislamientos fue neumonía, seguido de sepsis y por último meningitis. Observaron la tendencia del reemplazo de serotipos, el cual se presentó en todas las edades. Los serotipos no vacunales que resaltaron fueron los serogrupo 15 y 23. El serotipo 19A predominó en frecuencia como uno de los serotipos incluidos en la PCV13. Respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, el 69.2% de las cepas meníngeas y el 30% de cepas no meníngeas fueron resistentes a penicilina. Observaron altos niveles de resistencia a eritromicina (45.8%) y TMP/SMX (85%) (Instituto Nacional de Salud Pública, 2016).

Para el año 2017, analizaron 134 aislamientos de los cuales el 44% provenían de casos de meningitis y septicemia. Se observó una disminución de ese tipo de enfermedades en

la población de menores de dos años (que son la población blanco de la vacuna PCV13). En este año se observó nuevamente el fenómeno de reemplazo de serotipos, particularmente en la población de menores de 5 años de edad, en donde registraron el 44% de los casos de enfermedades invasoras y no invasoras causadas por serotipos incluidos en la PCV13 y el 55.3% causados por serotipos no incluidos en ella. Los serotipos de reemplazo que aparecieron con mayor frecuencia fueron los serogrupos 15 y 23 y destacaron la presencia de los serotipos 6C, 11A y 35B. El serotipo 19A siguió presentándose con mayor frecuencia en población de menores de 5 años. Observaron que el 57% de las cepas meningéas y 36.6% de cepas no meningéas fueron resistentes a penicilina. Hubo un nivel alto de resistencia para eritromicina (50%) y TMP/SMX (81.3%) (Instituto Nacional de Salud Pública, 2017).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Después de la introducción de las vacunas antineumocócicas conjugadas se ha observado un aumento de serotipos de *S. pneumoniae* no vacunales, causantes de enfermedades neumocócicas invasivas y no invasivas. En adición a esa situación, la resistencia de cepas bacterianas de *S. pneumoniae* ha ido en aumento debido a distintos factores dentro de los que se encuentra una mala prescripción y uso/abuso de antibióticos.

Por lo tanto, es necesario conocer la distribución de serotipos de *S. pneumoniae* circulantes, así como la susceptibilidad antimicrobiana en nuestra población, los cuales serán importantes para la formulación de nuevas vacunas y la toma de decisiones a nivel clínico.

## V. HIPOTESIS

Con base en resultados obtenidos por estudios realizados en México y el resto de Latinoamérica en los que se reporta un aumento en la prevalencia de serotipos de reemplazo, después de la introducción de vacunas antineumocócicas, en este trabajo se espera observar una mayor proporción de esos serotipos en las cepas de *S. pneumoniae* provenientes de los hospitales participantes en la red GIVEBPVac durante el 2018. Además, también se espera un aumento en la resistencia de *S. pneumoniae* frente a ciertos antibióticos como eritromicina y TMP/SMX.

## VI. OBJETIVOS

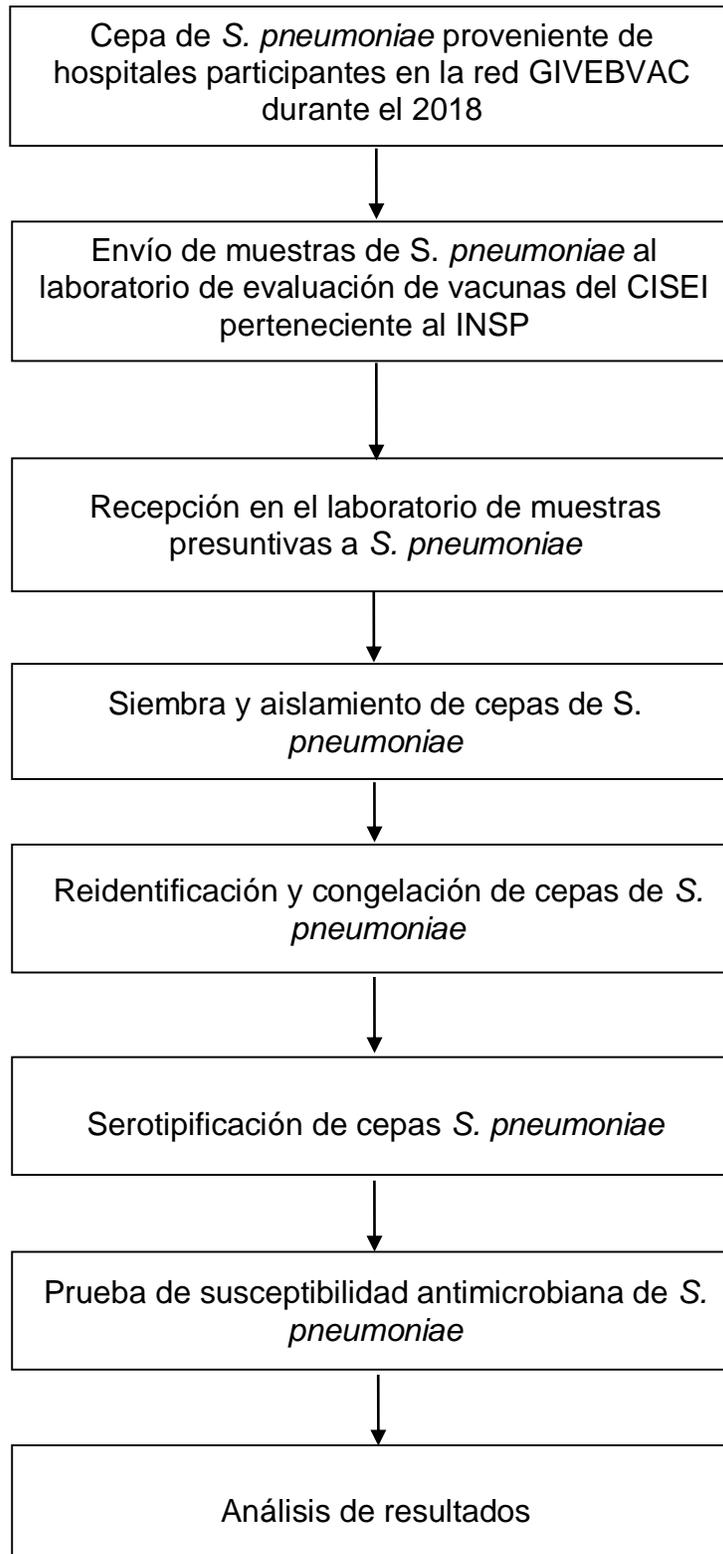
### VI.1 Objetivo General

- Determinar los serotipos y la susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae* en muestras de pacientes de hospitales participantes de la red GIVEBPVac durante el 2018.

### VI.2 Objetivos específicos

1. Determinar la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* prevalentes durante el periodo de estudio.
2. Evaluar el recambio de serotipos de *S. pneumoniae* causantes de enfermedad invasiva y no invasiva que se produjo después de la introducción de las vacunas.
3. Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos de *S. pneumoniae*.

## VII. METODOLOGÍA



## VII.1. Material y método

- **Tipo de estudio y diseño:** estudio descriptivo y/o transversal.
- **Lugar de realización del estudio:** en el Departamento de Evaluación de Vacunas del Centro de Investigación sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI) perteneciente al Instituto Nacional de Salud Pública (INSP).
- **Universo de estudio:** cepas de *S. pneumoniae* provenientes de pacientes de hospitales participantes en la red GIVEBPVac durante el periodo 2018 (Tabla 4).

**Tabla 4.** Estados e instituciones participantes de la red GIVEBPVac durante el periodo de estudio.

Estado	Institución
Chiapas	Hospital de Especialidades Pediátricas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas (HEPChis)
Ciudad de México	Instituto Nacional de Pediatría (INP)
	Instituto Nacional de Cardiología “Doctor Ignacio Chávez” (Hcard)
	Instituto Nacional de Cancerología (INCan)
	Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER)
	Instituto Nacional de Ciencias Médicas de la Nutrición (INCMN)
	Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN)
	Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional. Siglo XXI, IMSS (CMN)
	Hospital Infantil de México “Dr. Federico Gómez” (HIM)
	Hospital de Especialidades, CMN, La Raza (La raza)
	Hospital General Zona 2a Troncoso (Troncoso)
Durango	Hospital General de Durango (HGD)
Estado de México	Hospital Regional de Alta Especialidad de Ixtapaluca
Guadalajara	Antiguo Hospital Civil, Fray Antonio Alcalde de Guadalajara (HIG)
Guanajuato	Hospital Materno Infantil de León Guanajuato (HMILG)
Morelia	Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos” (H. Morelia)
Morelos	Hospital del Niño y Adolescente Morelense (HNM)
Nuevo león	Hospital San José Tecnológico de Monterrey (H. mont)
Oaxaca	Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca (HRAEOax)
Puebla	Hospital para el Niño Poblano (HNP)
San Luis Potosí	Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” (HSLP)
Tabasco	Hospital de Alta Especialidad del Niño “Dr. Rodolfo Nieto Padrón” (HNTab)
Yucatán	Hospital General de Mérida Yucatán “Dr. Agustín O’ Moran”

## VII.2. Siembra y aislamiento de cepas de *S. pneumoniae*

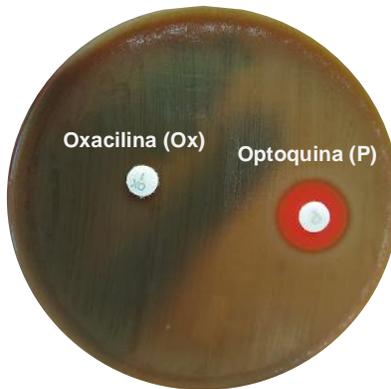
Un total de 205 muestras presuntivas a *S. pneumoniae* provenientes de 23 hospitales fueron enviadas para su análisis (Anexo 1), se sembraron en agar Columbia base con 10% de sangre de cordero (Anexo 2) e incubadas a una atmosfera de 5-7% de CO<sub>2</sub>, a 35°C de 18 a 24 horas, para obtener el crecimiento de colonias de *S. pneumoniae* en placas. Se tomó una colonia aislada y se sembró en otra placa de agar Columbia con 10% de sangre de cordero y se incubó en las condiciones ya mencionadas anteriormente (Figura 4).



Figura 4. Aislamiento de *S. pneumoniae* en agar Columbia sangre.

## VII.3. Identificación de cepas de *S. pneumoniae*

Después de haber observado la morfología colonial y la hemólisis parcial ( $\alpha$ ), se realizaron las pruebas de optoquina, oxacilina y solubilidad en bilis para su identificación. Las pruebas de oxacilina y optoquina se realizaron sembrando por toda la placa y en varias direcciones para producir un crecimiento homogéneo, un inóculo de la bacteria en una placa de agar Müeller-Hinton con sangre de cordero al 5% (Anexo 2). Se colocaron los discos de optoquina y oxacilina sobre el inóculo y fueron incubados a 5-7% de CO<sub>2</sub>, a 35°C de 18- 24 horas. Una vez transcurrido este tiempo, se midió el tamaño (en mm) de la zona de inhibición de ambos discos. En la optoquina, el halo de inhibición debió ser  $\geq 14$  mm para haber sido positivo a *S. pneumoniae*. Para oxacilina, el halo de inhibición debió ser de  $\geq 20$  mm diámetro para ser una cepa sensible a penicilina (Figura 5).



**Figura 5.** Prueba de optoquina y oxacilina.

La prueba de solubilidad en bilis se realizó agregando 1 ml de BHI en un tubo control y 0.5 ml de BHI en un tubo prueba. Ambos tubos se les agregó una suspensión igual de la bacteria con una turbidez igual de 0.5 estándar de McFarland. Al tubo prueba se le agregó 0.5 ml de desoxicolato de sodio al 10%. Posteriormente fueron incubados a 37°C por 30 minutos. Finalmente, se examinó la lisis bacteriana por aclaramiento, es decir, se comparó la lectura del tubo control (el cual debió estar turbio) y el tubo de prueba (el cual debió presentar lisis o aclaramiento del medio para que pudiera ser positiva a *S. pneumoniae*) (Figura 6).



**Figura 6.** Prueba de solubilidad en bilis

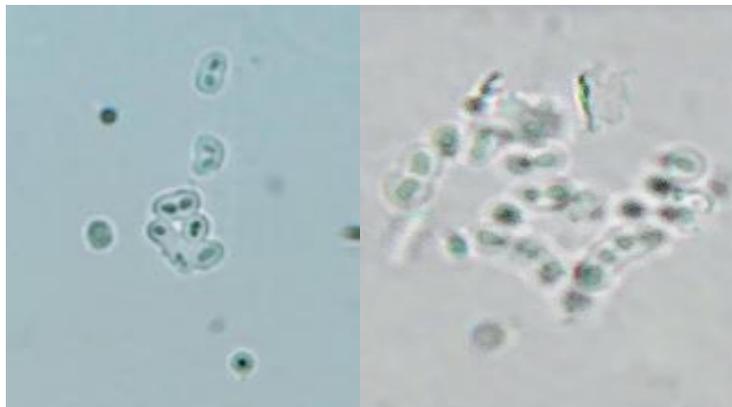
#### **VII.4. Serotipificación de cepas *S. pneumoniae***

Para identificar los serotipos de *S. pneumoniae* se realizó la prueba de Quellung, utilizando los antisueros producidos por el Statens Seruminstitut de Copenhague, Dinamarca. Las cepas fueron probadas utilizando nueve *pools* de antisueros (A, B, C, D, E, F, G, H, I). Una vez identificado el *pool* positivo se utilizaron los antisueros P, Q, R, S,

T, que determinan en que grupo/tipo se encuentra la bacteria, y para finalizar, se emplearon los factores del suero los cuales identificaron el serotipo de *S. pneumoniae*.

El protocolo consistió en, un portaobjetos de vidrio, se mezcló una pequeña porción de la colonia en estudio con un 1 µl de PBS, posteriormente se mezclan las células y antisueros específicos siguiendo la guía para la tipificación de los serotipos de *S. pneumoniae* (con antisueros producidos por el Statens Seruminstitut de Copenhague, Dinamarca) (Anexo 3) y se realiza la lectura de la reacción de Quellung usando un microscopio a 100X (Habib *et al.*, 2014).

Se produce una reacción positiva de Quellung cuando un anticuerpo tipo específico se une al polisacárido capsular del neumococo y causan un cambio en el índice refractivo de la cápsula haciéndola aparecer “hinchada”, también puede causar una aglutinación de la bacteria, lo cual nos indicó el serotipo al que pertenece esa cepa de *S. pneumoniae* (Figura 7) (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, 2010).

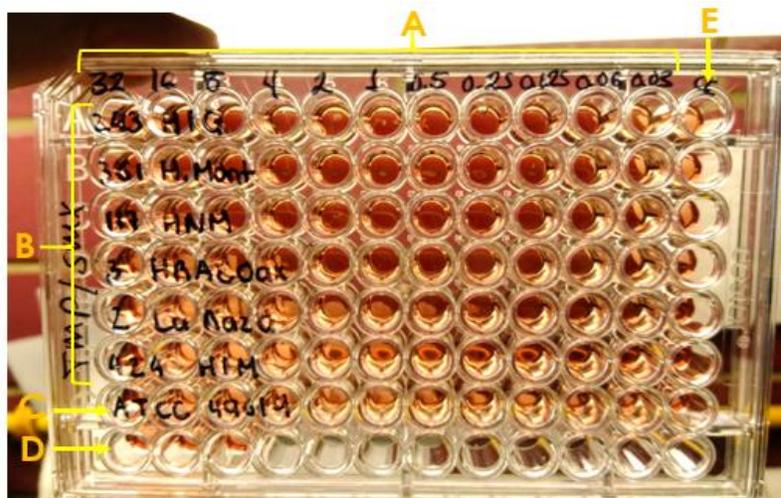


**Figura 7.** Prueba de Quellung. Hinchamiento capsular de *S. pneumoniae*, en donde se aprecian las células neumocócicas rodeadas por un “halo” translucido.

## VII.5. Susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae*

La susceptibilidad antimicrobiana se realizó por la técnica de microdilución en placa según los lineamientos de CLSI, determinando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de todas las cepas de *S. pneumoniae* frente a siete antimicrobianos: penicilina,

cefotaxima, cloranfenicol, eritromicina, trimetoprim/sulfametoxazol (TMP/SMX), levofloxacina y vancomicina. En esta técnica se utilizó el medio Müeller-Hinton suplementado con 3% de sangre de caballo lisada (Anexo 2), y se realizaron diferentes diluciones de cada uno de los antibióticos. Las microplacas se llenaron con 50  $\mu$ L de la dilución de cada antibiótico y se inocularon con 50  $\mu$ L de la bacteria a estudiar. Posteriormente las placas se incubaron a 35°C durante 18-20 horas en aerobiosis. Después del periodo de incubación se realizó la lectura visual de las microplacas para determinar la concentración mínima inhibitoria en donde la concentración del antibiótico ya no permitió el crecimiento bacteriano (Figura 8). *S. pneumoniae* ATCC 49619 se usó como cepa control, así como control de crecimiento y esterilidad. Los criterios de interpretación para cada uno de los antibióticos se realizaron de acuerdo a los lineamientos del CLSI 2018 (Tabla 5).



**Figura 8.** Técnica de microdilución en caldo. A) diluciones del antibiótico marcadas por el CLSI. B) cepas de *S. pneumoniae* a estudiar. C) cepa ATCC 49619. D) control de esterilidad. E) control de crecimiento.

**Tabla 5.** Criterios de interpretación de la CMI de acuerdo a los lineamientos del CLSI 2018.

Antibiótico	Criterios de interpretación de la CMI ( $\mu\text{g/ml}$ )		
	S	I	R
Penicilina (no meníngea)	$\leq 2$	4	$\geq 8$
Penicilina (meníngea)	$\leq 0.06$	---	$\geq 0.12$
Cefotaxima (no meníngea)	$\leq 1$	2	$\geq 4$
Cefotaxima (meníngea)	$\leq 0.5$	1	$\geq 2$
Vancomicina	$\leq 1$	---	---
Eritromicina	$\leq 0.25$	0.5	$\geq 1$
Levofloxacina	$\leq 2$	4	$\geq 8$
TMP/SMX	$\leq 0.5/9.5$	1/19-2/38	$\geq 4/76$
Cloranfenicol	$\leq 4$	---	$\geq 8$

## VII.6 Análisis de datos

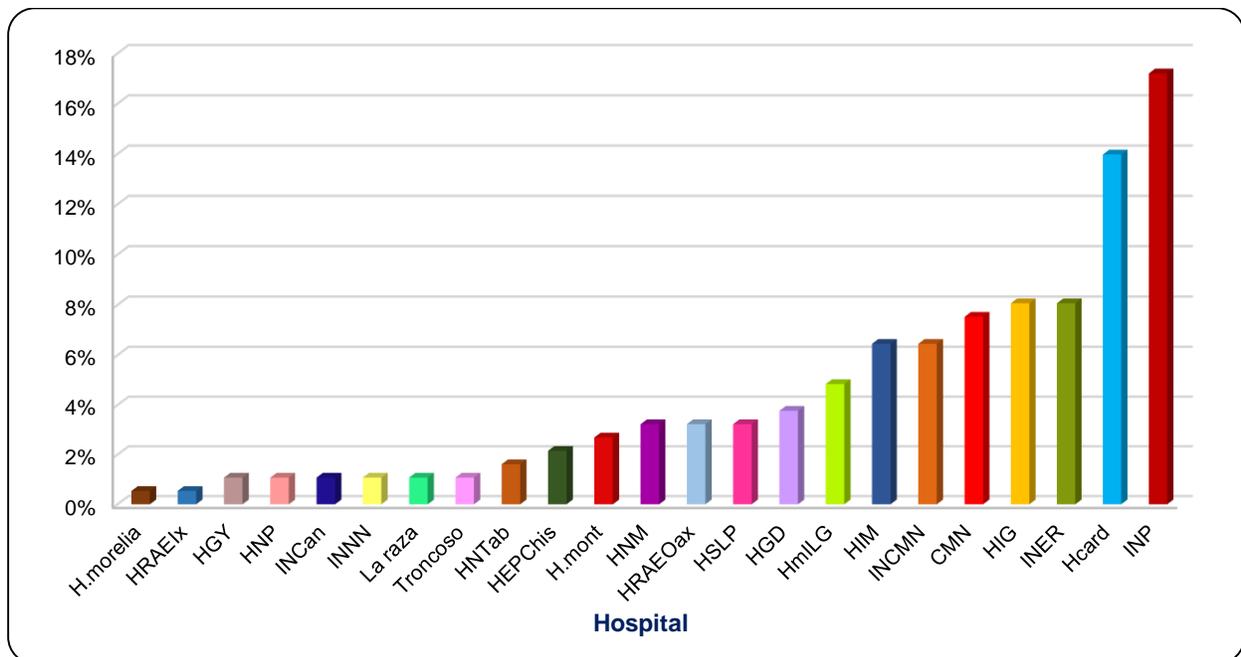
Se elaboró una base de datos de las cepas de *S. pneumoniae* recolectadas en las que se incluyeron datos como: hospital de procedencia, fecha de recepción, fecha de toma de muestra, sitio de aislamiento, número de muestra, sexo, edad y diagnóstico del paciente. Resultados de laboratorio: pruebas de optoquina, oxacilina, solubilidad en bilis, serotipo y susceptibilidad antimicrobiana a los siguientes antibióticos: penicilina, cefotaxima, eritromicina, cloranfenicol, TMP/SMX, vancomicina y levofloxacina.

## VIII. RESULTADOS

### VIII.1 Características de los aislamientos de *S. pneumoniae*

Durante el periodo de estudio se recibieron un total de 205 cepas bacterianas causantes de Enfermedades Invasivas y no Invasivas provenientes de 23 hospitales participantes en la red GIVEBPVac, a las cuales se les realizaron pruebas de identificación y solo 186 cepas fueron identificadas como *S. pneumoniae*, 95 (51.08%) de las cepas provenían de pacientes del sexo masculino y 91 (48.92%) del sexo femenino.

La mayoría de las cepas de *S. pneumoniae* recibidas fueron del Instituto Nacional de Pediatría (INP) 17.20%, el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” (Hcard) 13.98%, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) 8.06% y del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde” (HIG) 8.06% como se muestra en la Figura 9.



**Figura 9.** Porcentaje de cepas de *S. pneumoniae* recibidas por hospital participante en la red GIVEBPVac durante el 2018.

Durante el periodo de estudio, el número de cepas recibidas fue diverso en cada mes, se observó un incremento en el número de aislamientos recibidos durante los primeros meses del año con un 29%; sin embargo, durante el mes de junio se recibió un 13.98% (n=26) de las cepas totales de *S. pneumoniae*, el segundo mes con más cepas fue enero con un 12.90% (n=24) y en tercero estuvo el mes de septiembre con 22 cepas (11.83%) (Tabla 6).

**Tabla 6.** Distribución de cepas de *S. pneumoniae* por mes durante el periodo de estudio.

Mes	Número de muestras	Porcentaje
Enero	24	12.90%
Febrero	20	10.75%
Marzo	13	6.99%
Abril	6	3.23%
Mayo	18	9.68%
Junio	26	13.98%
Julio	6	3.23%
Agosto	13	6.99%
Septiembre	22	11.83%
Octubre	20	10.75%
Noviembre	14	7.53%
Diciembre	4	2.15%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100%</b>

Respecto a los grupos de edad se observó que 13.98% de las cepas fueron aisladas en pacientes menores de 12 meses de edad, 6.99% (n=13) en pacientes de 12-23 meses, 16.13% (n=30) en pacientes de 24 a 59 meses, 19.89% (n=37) en pacientes de 5-14 años, 9.68% (n=18) en pacientes de 15-29 años, 10.22% (n=19) en pacientes de 30-49 años, 6.99% (13%) en adultos de 50-59 años y el 12.90% (n=24) correspondían a adultos mayores a 60 años. Observándose mayor porcentaje en aislamientos de niños menores a cinco años de edad.

Del total de los aislamientos, 88 (47.32%) fueron invasivos y 98 (52.69%) fueron no invasivos. El sitio más común de aislamiento invasivo fue el hemocultivo (25.27%), seguido del líquido cefalorraquídeo (12.37%) y líquido pleural (9.68%). Dentro de los aislamientos no invasivos encontramos en primer lugar al broncoaspirado (31.72%), seguida de otros sitios como expectoración, orina, etc., (17.74%) y en menor porcentaje tenemos a la secreción ótica y ocular (0.54% y 0.54% respectivamente) (Tabla 7).

47.84% de las cepas provenían de pacientes con ENI y 52.16 % de cepas de pacientes con ENNI. Dentro de las ENI observamos que la más común fue bacteremia/sepsis (24.19%), seguida de meningitis (12.90%) y neumonía invasiva (10.75%). Por otro lado, la neumonía no invasiva (37.10%) fue la más frecuente dentro de las ENNI, en segundo lugar, están otras enfermedades como fibrosis quística, infección de herida, etc. (13.98%) seguida de conjuntivitis y otitis media aguda con 0.54% y 0.54% respectivamente (Tabla 8).

**Tabla 7.** Distribución de cepas de *S. pneumoniae* por sitio de aislamiento.

Sitio de aislamiento	Número de muestra	Porcentaje
Hemocultivo	47	25.27%
LCR	23	12.37%
Líquido pleural	18	9.68%
Aspirado traqueal	4	2.15%
Broncoaspirado	59	31.72%
Secreción ocular	1	0.54%
Secreción ótica	1	0.54%
Otros*	33	17.74%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100%</b>

**Otros\*:** expectoración, orina, secreción de herida, secreción nasal, líquido peritoneal y sin dato.

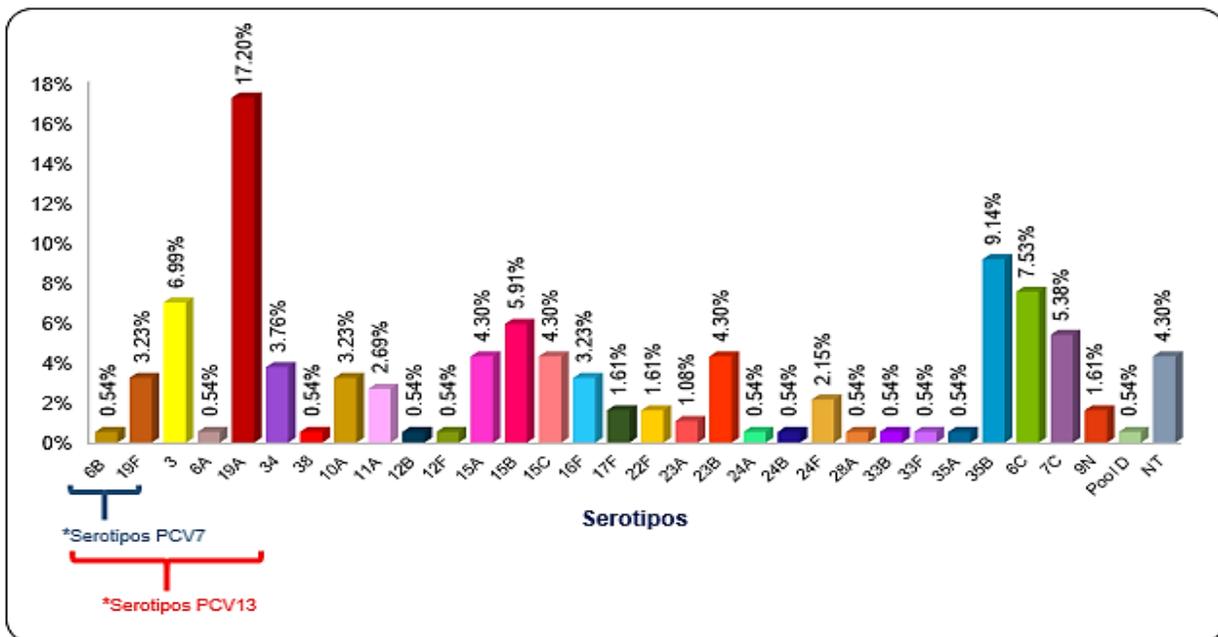
**Tabla 8.** Distribución de cepas de *S. pneumoniae* por diagnóstico.

Diagnóstico	Número de muestra	Porcentaje
Bacteremia/ Sepsis	45	24.19%
Meningitis	24	12.90%
Neumonía Invasiva	20	10.75%
Neumonía no Invasiva	69	37.10%
Conjuntivitis	1	0.54%
Otitis Media Aguda	1	0.54%
Otros*	26	13.98%
<b>Total</b>	<b>186</b>	<b>100%</b>

**Otros\*:** fibrosis quística, infección de herida, IRA, IVU, peritonitis y sin dato.

### VIII.2 Distribución de serotipos

Se encontraron 32 diferentes serotipos causantes de ENI y ENNI durante el periodo de estudio. Se observa que aún persisten algunos serotipos vacunales como 6B (0.54%), 19F (3.23%), 3 (6.99%), 6A (0.54 %) y 19A (17.20%), en donde este último tuvo mayor prevalencia, seguido del serotipo 3. Dentro de los serotipos no vacunales encontramos con más frecuencia al serotipo 35B (9.14%), 6C (7.53%), 15B (5.91%), 7C (5.38%) y los serotipos 15A, 15C, 23B y no tipificables con un 4.3% cada uno (Figura 10).



**Figura 10.** Distribución de serotipos de cepas de *S. pneumoniae*.

De los serotipos con mayor frecuencia encontramos que el serotipo 19A se presenta comúnmente en niños menores de 5 años (40.63%) y en niños dentro de un rango de 5-14 años presenta un 28.13%. Se observó que este serotipo es causante de bacteremia (28%), neumonía invasiva (28%) y no invasiva (28%).

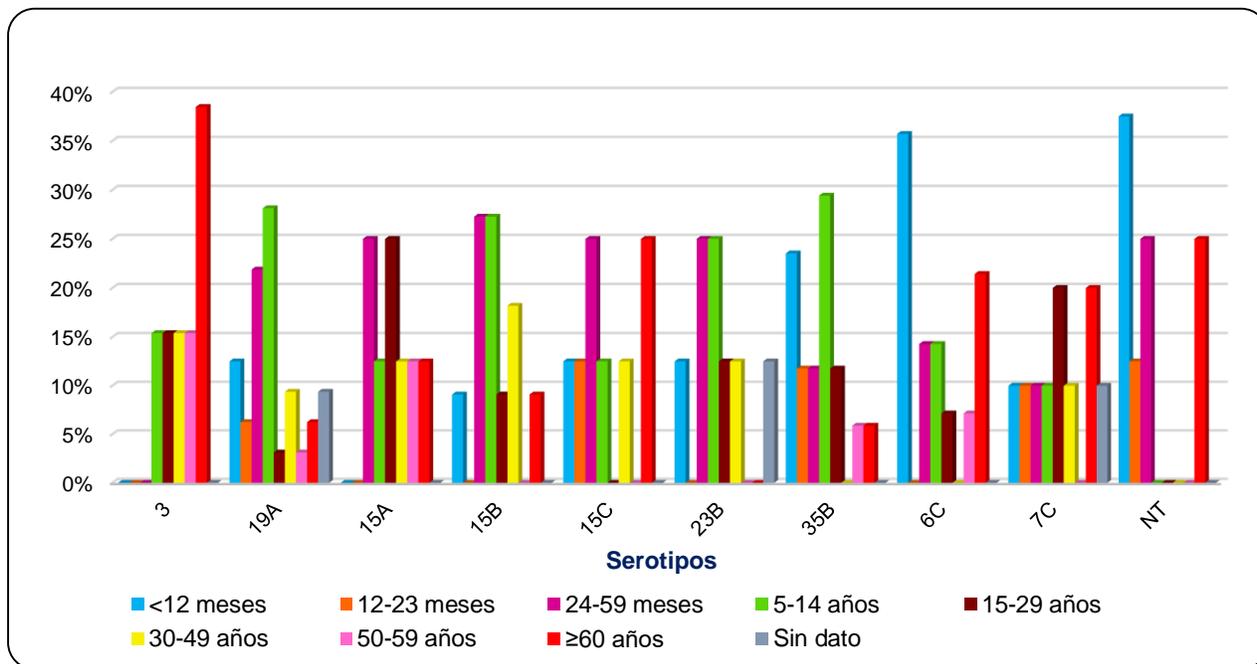
El serotipo 35B fue más frecuente en niños menores de 5 años (47.05%) y niños dentro de un rango de edad de 5-14 años (29.41%). Siendo causante de neumonía no invasiva (53%). La distribución del serotipo 6C fue igual para niños menores de 5 años (50%), presento mayor distribución en cepas causantes de neumonía no invasiva (43%).

El serotipo 3 se presentó con mayor frecuencia en adultos mayores de 60 años (38.46%) y fue más frecuentemente aislado de pacientes con neumonía no invasiva (31%). El serotipo 7C fue más frecuente en niños menores de 5 años (30%), en niños dentro del rango 5-14 años y adultos mayores de 60 años (20%). Se observó que este serotipo está asociado con cepas causantes de neumonía no invasiva (50%).

Dentro del serogrupo 15, el serotipo 15A se encontró mayormente distribuido en niños de 24 a 59 meses y jóvenes dentro del rango de 15-29 años (25%), causante de neumonía no invasiva (38%). El serotipo 15B tuvo una mayor distribución en niños menores de 5 años (36.36%) y niños de 5-14 años (27.27%), se encontró con más frecuencia en diagnósticos de neumonía no invasiva (36%). El serotipo 15C fue más frecuente en niños menores de 5 años (50%) en pacientes con bacteremia-sepsis y neumonía no invasiva (38%).

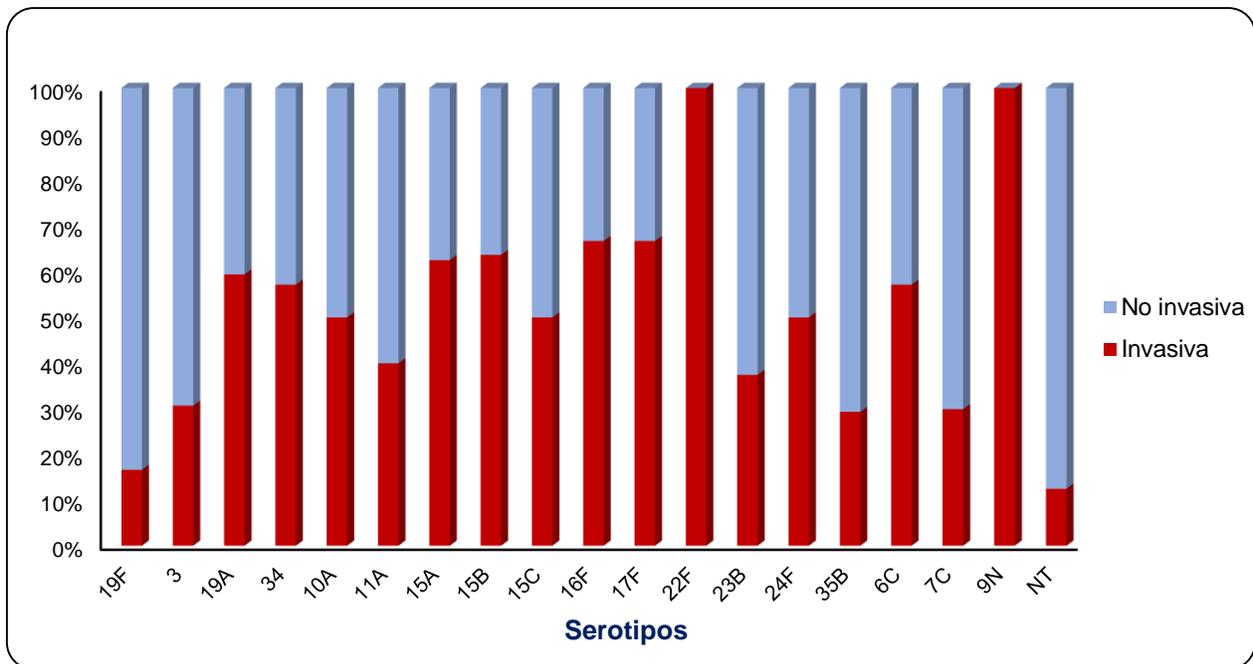
El serotipo 23B se encontró mayoritariamente en niños menores de 24-59 meses y niños de 5-14 años (25%) y su distribución fue mayor en enfermedades como fibrosis quística, infección de herida, IRA, IVU, etc. (38%), meningitis y neumonía no invasiva (25%)

Los serotipos no tipificables (NT) fueron más frecuentes en niños menores de 5 años (75%) y se encontraron en cepas causantes de neumonía no invasiva (75%) (Figura 11).



**Figura 11.** Serotipos de *S. pneumoniae* por grupo de edad.

En general, dentro de los serotipos vacunales los serotipos 19F y 3 se encontraron con mayor frecuencia en enfermedades no invasivas, mientras que el serotipo 19A fue más común en enfermedades invasivas. Dentro del grupo de serotipos no vacunales, el serotipo 34, 10A, serogrupo 15, 16F, 17F, 22F, 24F, 6C y 9N presentaron mayor prevalencia en enfermedades neumocócicas invasivas, por su parte los serotipos 10A, 11A, 15C, 23B, 24F, 35B, 7C y no tipificables fueron más frecuentes dentro de las enfermedades no invasivas (Figura 12).



**Figura 12.** Serotipos de *S. pneumoniae* por tipo de enfermedad neumocócica.

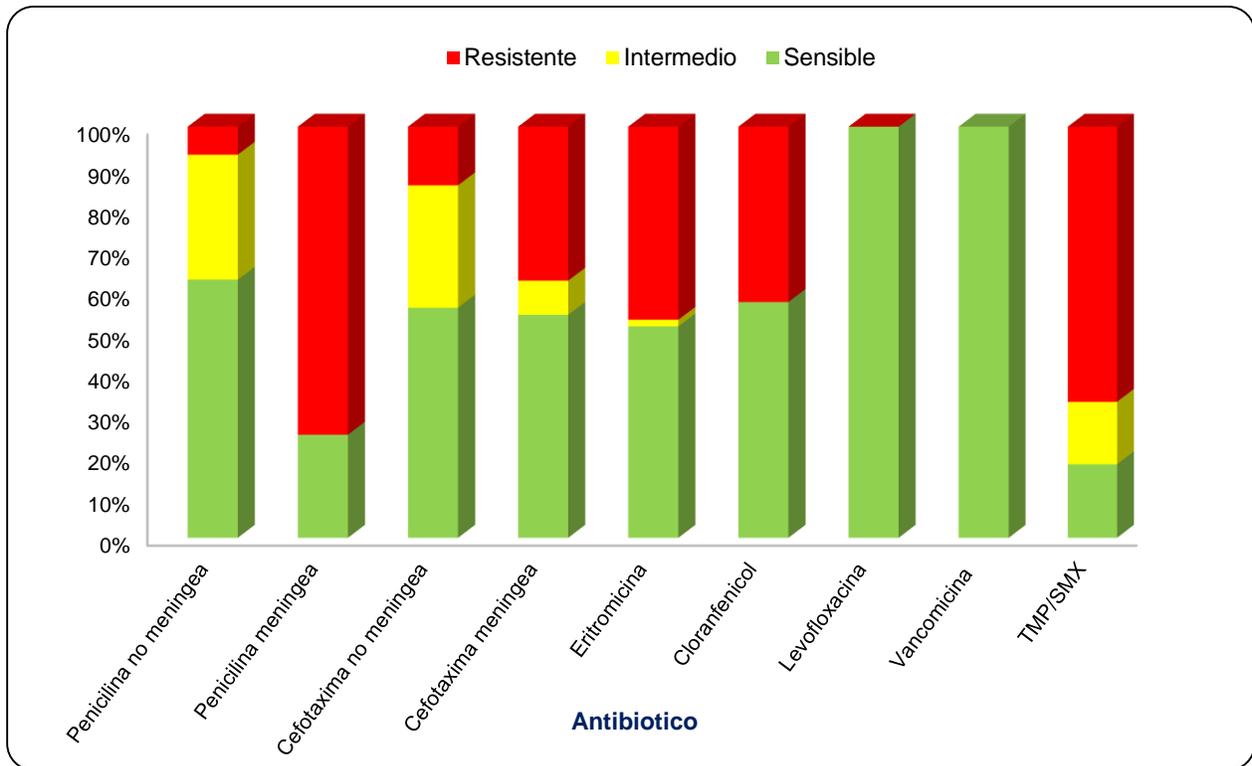
### VIII.3 Susceptibilidad antimicrobiana

Del total de 186 cepas de *S. pneumoniae*, se tomaron en cuenta solo 185 ya que, una cepa no creció cuando se le realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por microdilución en caldo.

Los porcentajes de resistencia a penicilina no meníngea se observaron en bajos niveles de resistencia 5.83%, susceptibilidad intermedia de 30.43% y alta sensibilidad del 62.73%. El 75% de las cepas meníngeas fueron resistentes a penicilina y solo un 25% fueron sensibles. En cefotaxima no meníngea hubo resistencia del 14.29%, susceptibilidad intermedia de 29.81% y una alta sensibilidad del 55.90%. En cefotaxima meníngea se observó resistencia del 37.50%, susceptibilidad intermedia del 8.33% y sensibilidad de 55.90%.

En el caso de eritromicina hubo resistencia del 47.03%, susceptibilidad intermedia de 1.62% y sensibilidad del 51.35%; en cloranfenicol se observó que el 47.70% de las cepas fueron resistentes y el 57.30% fueron sensibles, en TMP/SMX la resistencia fue mayor

que en los otros antibióticos (67.03%), presentó susceptibilidad intermedia de 15.14% y baja sensibilidad de 17.84%. Todas las cepas fueron sensibles a levofloxacina y vancomicina (100%) como se muestra en la Figura 13.



**Figura 13.** Susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae* durante el periodo de estudio

La susceptibilidad a penicilina en cepas meníngeas mostró alta resistencia en los serotipos 6C, 15B, 15A, 23B, 35B (Figura 14). Los serotipos 19A, 19F y 23B muestran resistencia a penicilina en cepas no meníngeas, así como los serotipos 19A, 35B, 15B, 10A, 15C y 6C mostraron una alta susceptibilidad intermedia en este tipo de cepas (Figura 15)

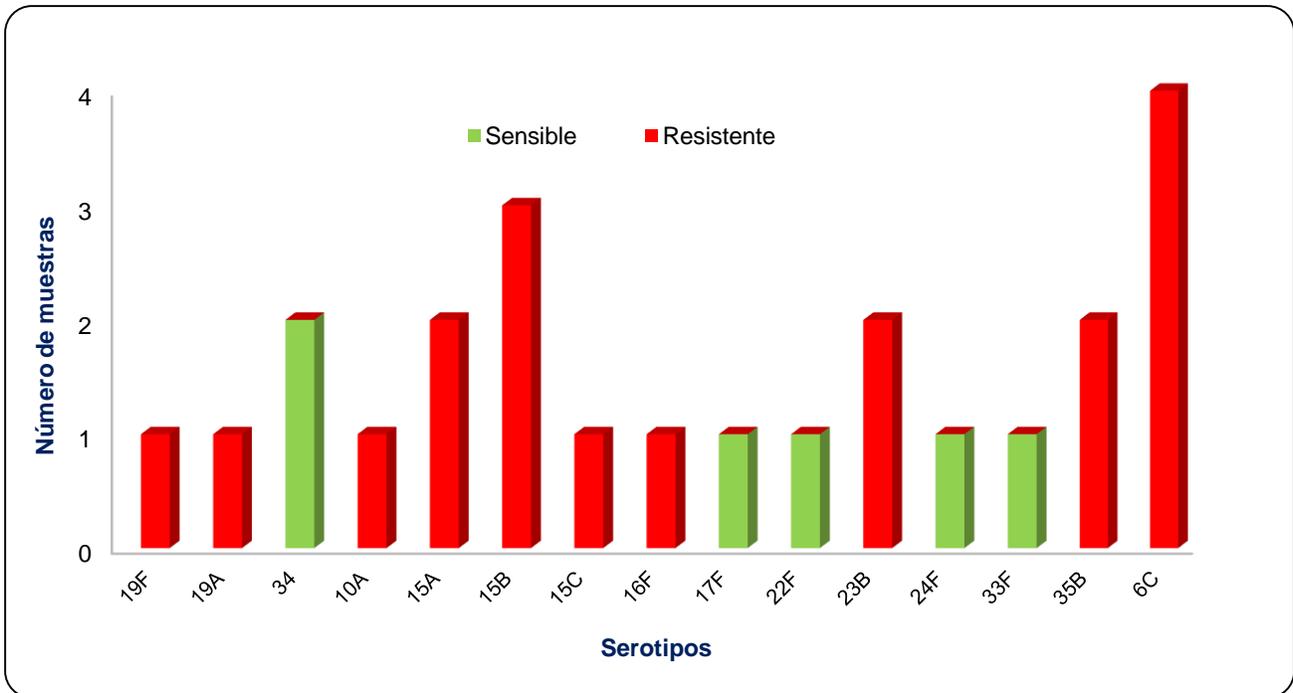


Figura 14. Susceptibilidad antimicrobiana a penicilina de cepas de *S. pneumoniae* meníngeas por serotipo.

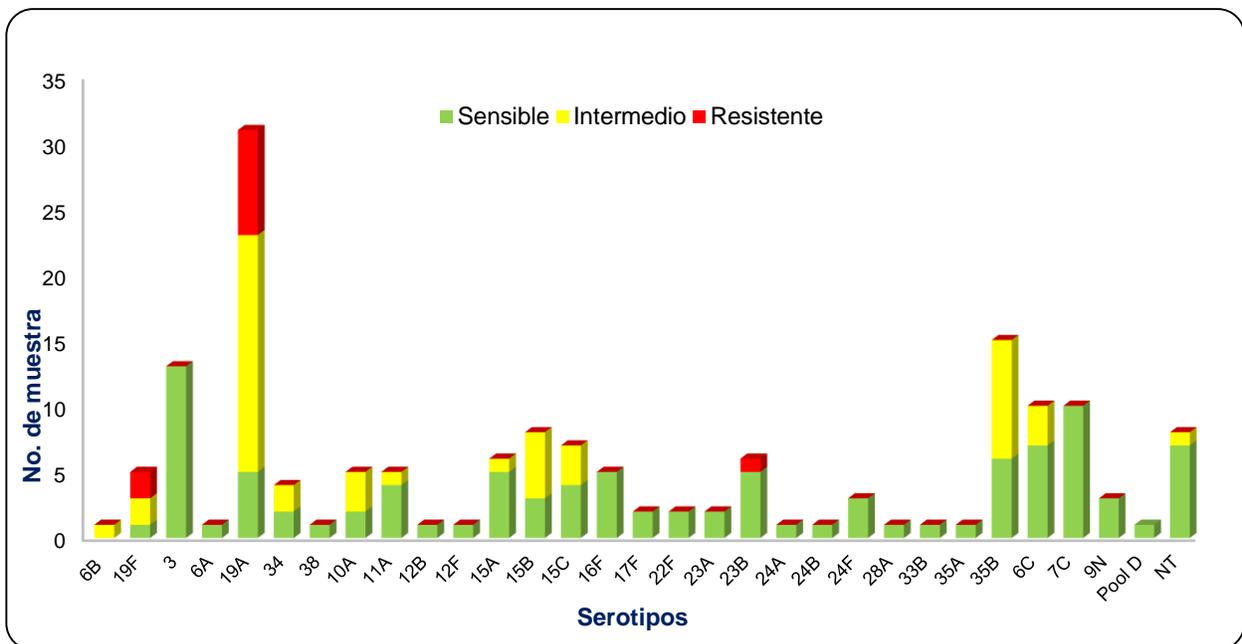


Figura 15. Susceptibilidad antimicrobiana a penicilina de cepas de *S. pneumoniae* no meníngeas por serotipo.

Los serotipos que mostraron mayor número de cepas resistentes a cefotaxima meníngea fueron: 15B, 35B y 6C, encontrándose mayor susceptibilidad intermedia en los serotipos 19F y 15B a este antibiótico (Figura 16). En cepas no meníngeas, los serotipos con más cepas resistentes a cefotaxima fueron 19A, 15B, 15A, 35B, y 6C, con susceptibilidad intermedia estuvieron los serotipos 19A, 35B, 15B, 19F, 10A y no tipificables (Figura 17).

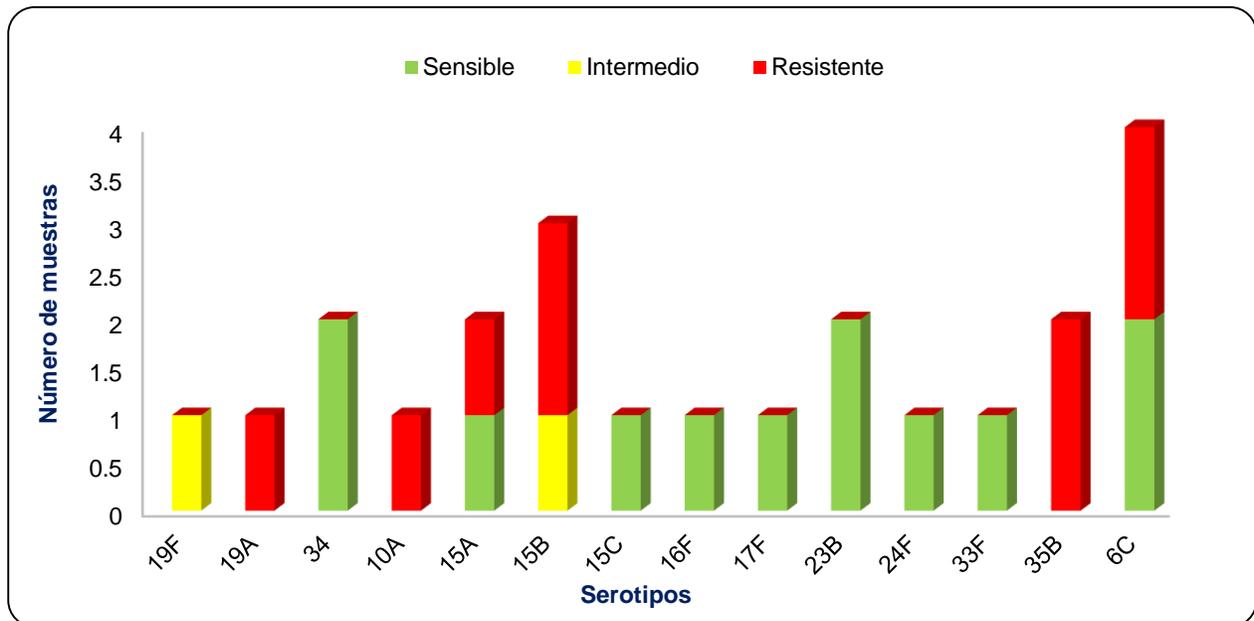


Figura 16. Susceptibilidad antimicrobiana a cefotaxima de cepas de *S. pneumoniae* meníngeas por serotipo.

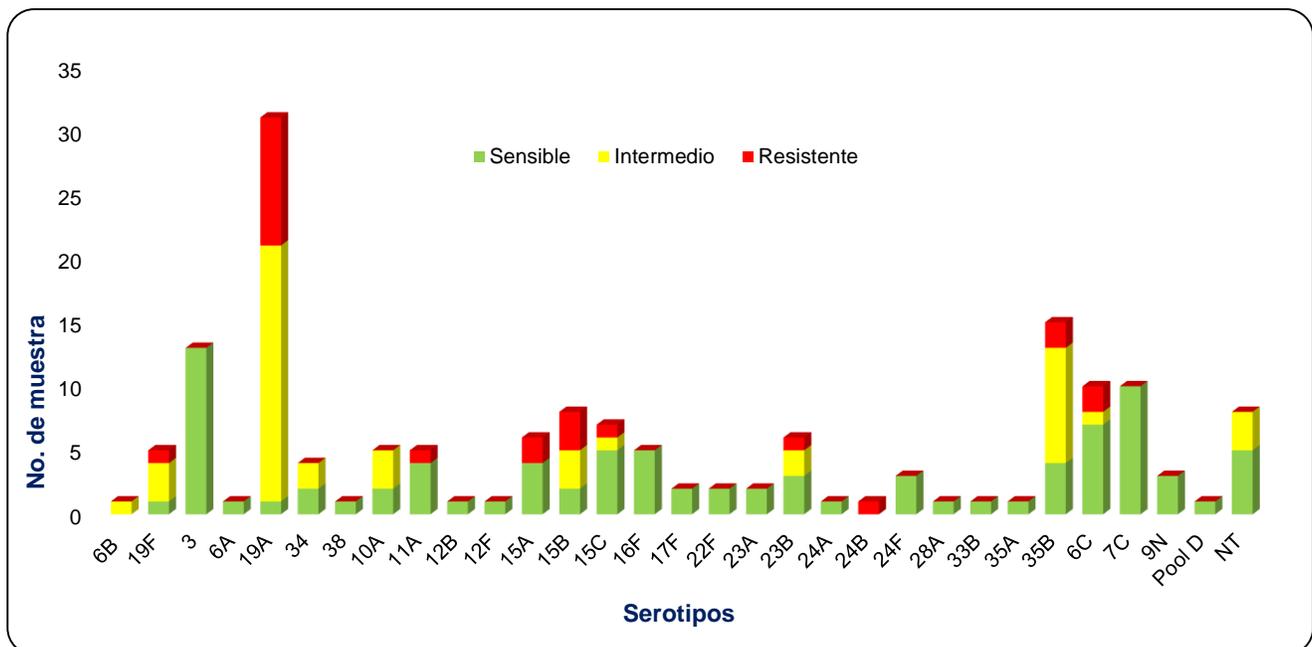
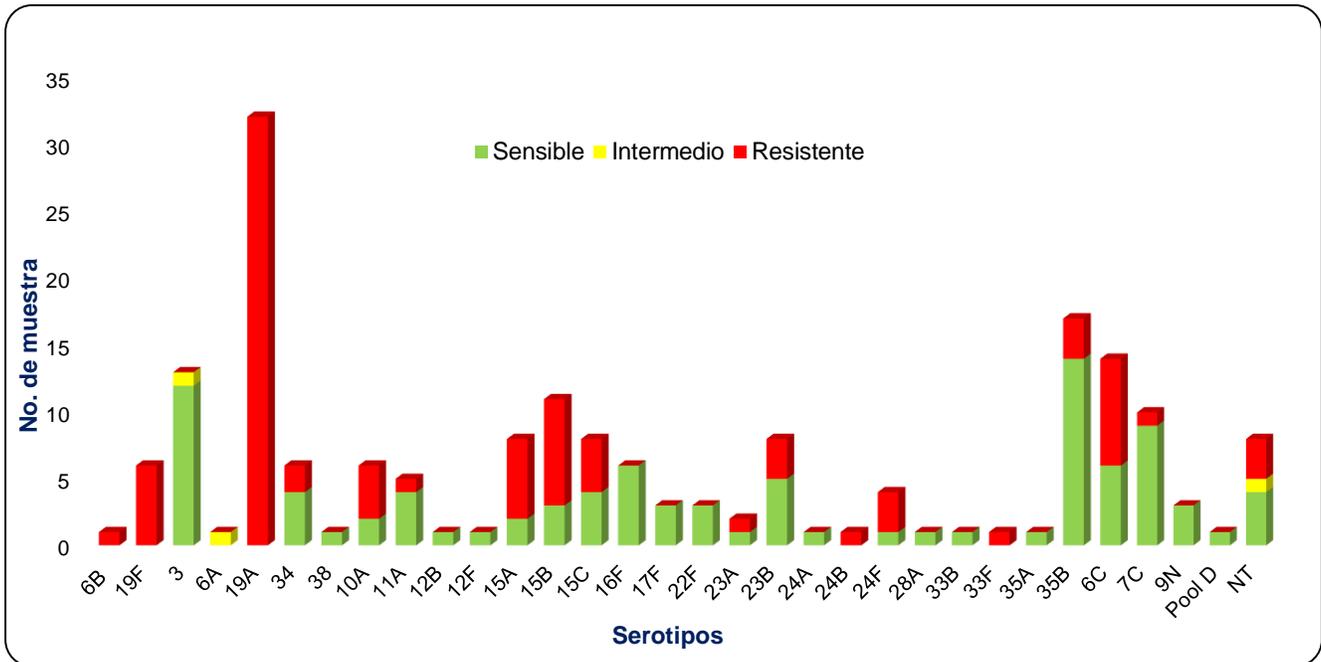


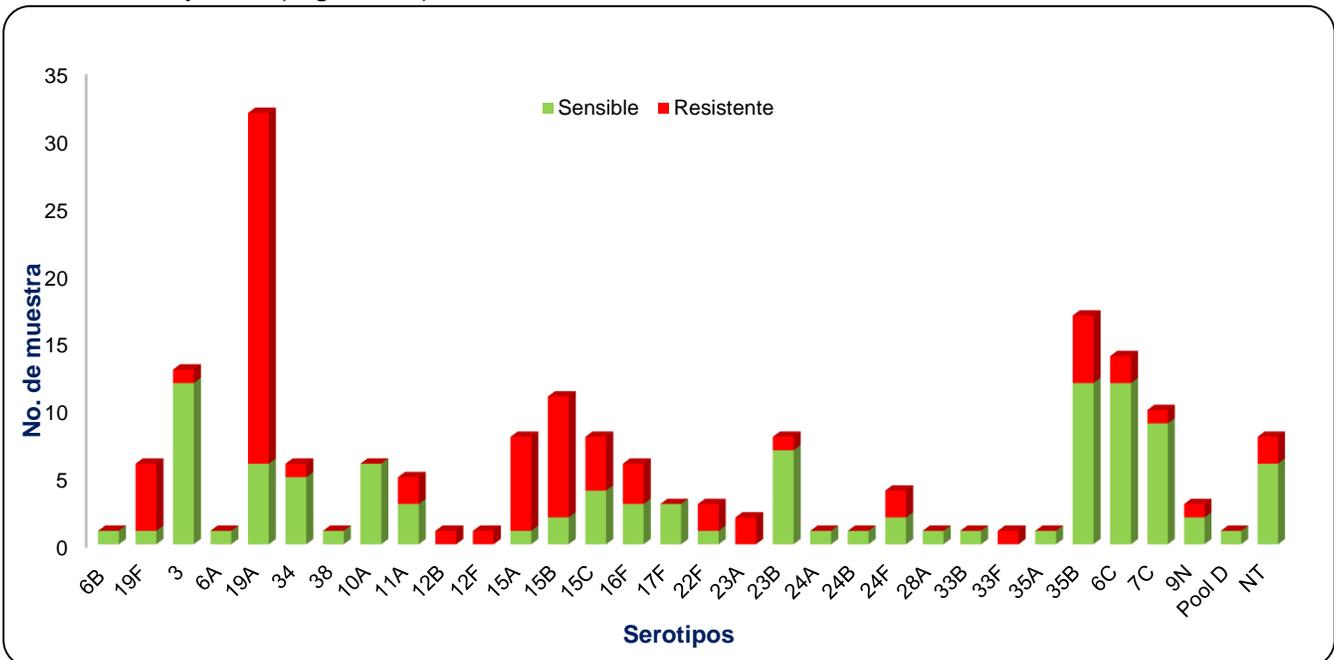
Figura 17. Susceptibilidad antimicrobiana a cefotaxima de cepas de *S. pneumoniae* no meníngeas por serotipo.

Se observó mayor número de cepas con resistencia a eritromicina en los serotipos 19A, 15B, 6C, 15A, 19F, 10A y 15C (Figura 18).



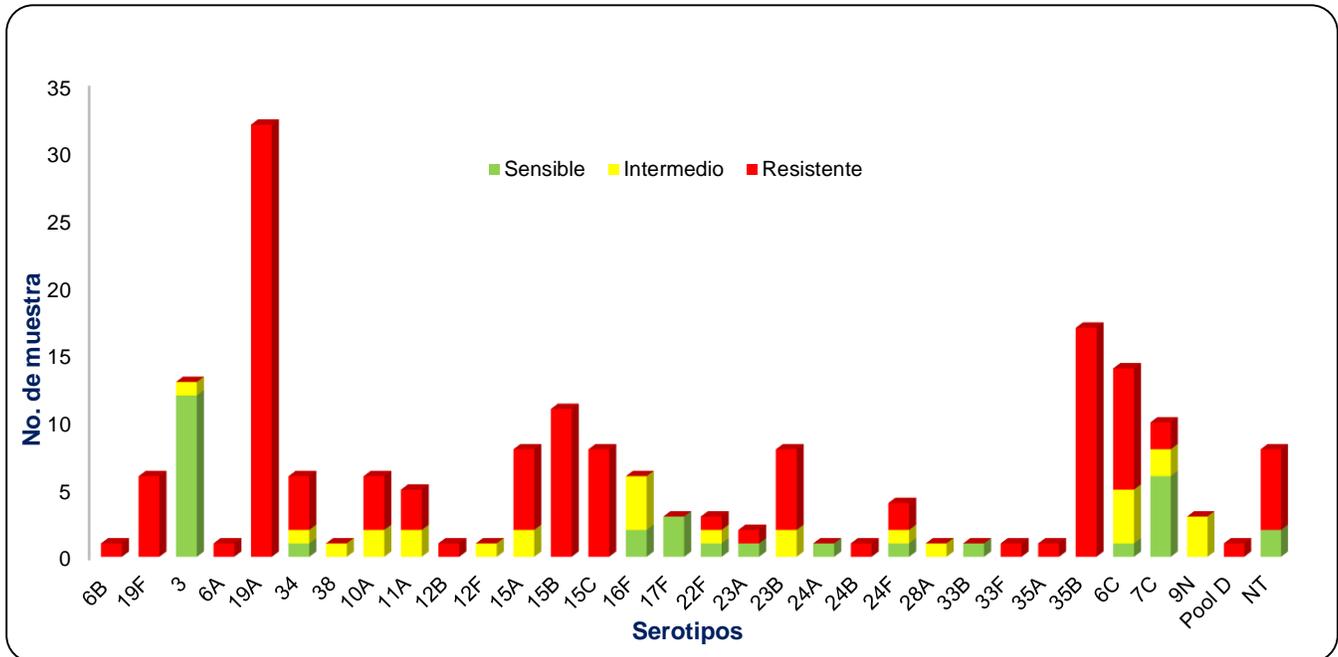
**Figura 18.** Susceptibilidad antimicrobiana a eritromicina de cepas de *S. pneumoniae* por serotipo.

Los serotipos que presentaron mayor resistencia a cloranfenicol fueron 19A, 15B, 15A, 19F, 35B y 15C (Figura 19).



**Figura 19.** Susceptibilidad antimicrobiana a cloranfenicol de cepas de *S. pneumoniae* por serotipo.

Se observó una alta resistencia a TMP/SMX en todos los serotipos encontrados. Por otra parte, los serotipos con más cepas sensibles a este antibiótico fueron el serotipo 3, 7C y 17F (Figura 20).



**Figura 20.** Susceptibilidad antimicrobiana a TMP/SMX de cepas de *S. pneumoniae* por serotipo

Dentro de los serotipos encontrados los serotipos 3 y 7C presentaron alta sensibilidad a los siete antibióticos probados. Por otro lado, algunos serotipos fueron multidrogoresistentes (MDR) principalmente: 19A, 19F, 35B, 10A, 23B, 24F, 6C, serogrupo 15, y serotipos no tipificables.

## IX. DISCUSIÓN

La prevalencia de los 97 serotipos de *S. pneumoniae* varía de acuerdo a la edad, región y el periodo de estudio. En México, se observó que después de la introducción de la vacuna conjugada heptavalente (PCV7) hubo cambios en la prevalencia de serotipos; tendió a disminuir los serotipos vacunales y a aumentar aquellos serotipos que no estaban dentro de las PCVs; serotipos no vacunales o serotipos de reemplazo.

A lo largo de este estudio, se encontró que los serotipos vacunales como 6B, 6A, 19F, 3 y 19A siguen presentándose. De estos, los serotipos 3 y 19A fueron los más frecuentes, lo cual coincide con los resultados de vigilancia de la red GIVEBPVac de años anteriores, en donde reportaron que los serotipos vacunales 3 y 19A fueron los más frecuentes durante el año 2016 y 2017 (Instituto Nacional de Salud Pública, 2016; Instituto Nacional de Salud Pública, 2017). Este fenómeno también se presenta en varios países de América en donde estos serotipos vacunales son los más frecuentes; en Estados Unidos (2011-2012), la prevalencia del serotipo 3 fue de 8% y 14% para el 19A, en Chile el serotipo 3 presentó una prevalencia del 10% (2014) y 14% (2015) y 19A con 13% (2014) y 10% (2015), en Canadá (2011-2015) los serotipos vacunales más comunes fueron el 7F, 19A y 3; para Brasil (2013-2015), en donde no se aplica la PVC13, sino la PCV10, los serotipos vacunales con mayor proporción fueron los serotipos 4 y 23F, mientras que el 19A fue de los más frecuentes pero dentro del grupo de los serotipos no vacunales con una proporción del 12.7% (Mendes *et al.*, 2014; Instituto de Salud Pública de Chile, 2015; Adam *et al.*, 2018; Christophe *et al.*, 2018).

Por otro lado, en Corea (2008-2014) la prevalencia del serotipo 3 fue de 13.5% y para el 19A fue de 9% (Hyun Kim *et al.*, 2016). En Japón (2014-2016) el serotipo 3 presentó una prevalencia de 9.6% y el serotipo 19A tuvo 9.4% (Miyazaki *et al.*, 2016). En China durante el periodo 2011-2016 el serotipo 19F estuvo en primer lugar, seguido de otros serotipos vacunales como 19A, 6B y 6A (Zhao *et al.*, 2017). Con esto se puede observar que las vacunas antineumococicas conjugadas tienen baja efectividad frente a podría estos serotipos, ya que, se ha observado que los serotipos 19A y 3 han prevalecido en la

mayoría de los países a pesar de estar incluidos a la PCV13. Resultados obtenidos de otros estudios como el de Hernández *et al.*, en donde también se observa la prevalencia de estos serotipos vacunales (en especial el serotipo 3) en niños con neumonía complicada, sugieren que la baja efectividad de la PCV13 es muy puntual en estos dos serotipos. Además, se ha observado que en estudios de inmunogenicidad el nivel de anticuerpos opsonofagocíticos contra el serotipo 3 era inferior al de los otros serotipos de la PCV13 (Vanderkooi *et al.*, 2012) Por lo cual, Hernández *et al.*, mencionan que la baja efectividad de esta vacuna frente a estos serotipos puede ser provocada por diversos factores, por lo cual, la cobertura de la vacuna debe aumentarse aún más para reducir la circulación de los serotipos de la vacuna, así como una continua vigilancia de los casos de IPD y la implementación de no solo técnicas de cultivos sino, también, de técnicas moleculares como la PCR para caracterizar si existen fallas de las vacunas.

El serotipo 19A surgió como un serotipo predominante en varios países, tanto en niños como en adultos, después de la introducción de PCV7, así como en otros países sin programas de vacunación con PCV7. Posibles factores que contribuyen a las altas tasas de serotipo 19A incluyen la no sensibilidad a la penicilina, así como el recambio capsular, es decir, una recombinación genética que resulta en la adquisición de un nuevo serotipo capsular (Isturiz *et al.*, 2017).

Respecto al serotipo 3, Choi *et al.*, sugieren que la ineficacia del conjugado de serotipo 3 en la PCV13 puede ser una consecuencia directa de la liberación del polisacárido capsular por parte del microorganismo, un proceso que diferencia el tipo 3 de otros serotipos incluidos en las vacunas conjugadas actuales. Por esta razón se sugiere que, para tener una protección óptima contra las enfermedades provocadas por el serotipo 3, se requieren de estrategias alternativas como vacunas basadas en proteínas o células completas (Choi *et al.*, 2015).

Por otra parte, los serotipos no vacunales con mayor prevalencia durante este periodo fueron los serotipos: 35B, 6C, 15B, 7C, 15A, 15C, 23B y no tipificables los que presentaron mayor frecuencia. Comparando nuestros resultados con previos reportes de

GIVEBPVac, en el 2016 el serotipo 23B fue el más frecuente, seguido del serotipo 11A, 15A, 35B, no tipificables, 6C, 15B y 15C. Con esto podemos observar que los serotipos 35B, 6C, 15B y 15C aumentaron en nuestro periodo de estudio, mientras que el 15A, 23B y no tipificables disminuyeron. Respecto al serotipo 7C en el 2016 tuvo una frecuencia del 4.21% y el 11A en nuestro estudio solo representó el 2.69 % de todos los serotipos (Instituto Nacional de Salud Pública, 2016). Resultados similares a los nuestros se observaron para el año 2017 GIVEBPVac en donde se reportó que los serotipos con mayor frecuencia fueron: 35B, 6C, 15A, 23A, 11A, 23B, 15C y no tipificables; excepto los serotipos 15A y 23B disminuyeron un poco para el 2018 (Instituto Nacional de Salud Pública, 2017).

Nuestros resultados de la distribución de serotipos no vacunales muestran una tendencia similar en un estudio realizado en Estados Unidos en el periodo 2011-2012, en donde los serotipos 35B, 23A, 11A, 22F, 22A, 15B, 15C, 6C y 23B fueron los que mostraron mayores porcentajes (Mendes *et al.*, 2014). Por otra parte, comparando con Canadá, se observa que, hay una gran diferencia en la distribución de serotipos no vacunales ya que para este país los serotipos 22F, 12F, 11A, 9N, 33F, 15A fueron los de mayor prevalencia (Adam *et al.*, 2018). La misma discrepancia se nota en Brasil, donde los serotipos no incluidos en la PCV10 predominantes fueron el 19A, 22F, 8 (6%) y 9N. (Christophe *et al.*, 2018).

En países como Japón (2014-2016), podemos ver similitud con nuestro estudio, ya que, reportaron que los serotipos más comunes fueron 35B, 15A, 11A, 10A, 6C, no tipificables, 15B y 23A (Miyazaki *et al.*, 2016). En China (2011-2016) los serotipos no vacunales con mayor prevalencia fueron del serogrupo 15, seguido por el serotipo 17F (Zhao *et al.*, 2017). En otro estudio realizado en China ya se había reportado el predominio de los serotipos 15B/C en el 2013 por Pan *et al.* Para Corea (2008-2014) el serogrupo 35 fue el más común, seguido del serotipo 34, 6D y 6C, mostrando una similitud con nuestro estudio en la presencia de dos de estos serotipos 35 y 6C (Hyun Kim *et al.*, 2016).

Se observa un incremento de los serotipos no vacunales en la mayoría de los países comparados, en especial la predominancia de los serotipos 35B y serogrupo 15 por lo tanto, se les debe dar un mejor seguimiento a través de vigilancias y considerarse en las vacunas antineumocócicas de próxima generación.

Estudios previos confirman que las cepas del serotipo 35B parecen haber tenido originalmente cápsulas de 9V, es decir, cambiaron a una cápsula 35B después de la aplicación de la vacuna PCV13 en la población. Con esto se podría reafirmar que, los serotipos de *S. pneumoniae* llevan a cabo un intercambio capsular bajo la presión de selección producida por los anticuerpos presentes en las vacunas antineumococcicas conjugadas (Swanson *et al.*, 2017; Chochua *et al.*, 2017).

Las infecciones causadas por *S. pneumoniae* han sido tratadas tradicionalmente con antibióticos  $\beta$ -lactámicos, a los cuales esta especie era extremadamente sensible cuando se introdujo por primera vez la penicilina. Desafortunadamente, después de la aparición y el incremento de resistencia de *S. pneumoniae* hacia estos antibióticos, se ha tenido que optar por el uso de macrólidos, fluoroquinolonas y otros antibióticos no  $\beta$ -lactámicos para tratar las enfermedades neumocócicas (Zhao *et al.*, 2017).

En países asiáticos como Irán la resistencia a penicilina no meníngea fue de 28.6%, para penicilina meníngea fue del 15.6%, cefotaxima no meníngea 9.5%, 6.25% para cefotaxima meníngea, eritromicina 76.1% y 66.65 para TMP/SMX (Houry *et al.*, 2017). En China el 66.7% de las cepas fueron resistentes a penicilina meníngea y solo el 10.7% a penicilina no meníngea y presentaron altos porcentajes para eritromicina 97.2% y TMP/SMX 79.9% (Pan *et al.*, 2015). Zhao *et al.*, en 2017 realizó un estudio en donde encontró resistencia de 51.6% para penicilina y 95.2% para eritromicina (Zhao *et al.*, 2017). En la mayoría de los países, podemos observar que los porcentajes de resistencia a penicilina no meníngea son más bajos que los de penicilina meníngea, lo cual sugiere que la penicilina en cepas no meníngeas podría seguir siendo el antibiótico de elección para el tratamiento de algunas enfermedades neumocócicas, mientras que para los otros

antibióticos se deben buscar alternativas como es el caso de la eritromicina y TMP/SMX los cuales muestran altos niveles de resistencia.

Durante nuestro periodo de estudio los serotipos 19A, 19F, 23B mostraron mayor resistencia a penicilina no meníngea, por su parte para penicilina meníngea los serotipos 6C, 15 A/B, 23B y 35B fueron los más comunes. Lo cual tiene similitud con lo reportado por Hackel *et al.*, (2013) en donde los serotipos 19A, 6A, 19F, 14, 6B, 9V, 35B, 23A y 15A mostraron mayores niveles de resistencia a este antibiótico. Igualmente coincide con países como China, en donde los serotipos que concuerdan con nuestro estudio son el 19F y 15B, para Japón son los serotipos 19A, 15A y 35B, en Corea fueron el serogrupo 35, serotipo 19A y 19F, en Tunisia los serotipos 19F y 19A y para Estados Unidos fueron los serotipos 19A y 19F. Algunos otros serotipos con altos niveles de resistencia a penicilina fueron 14, 23A/B/F, 6A/B, 9V/A (Zhao *et al.*, 2017; Hyun Kim *et al.*, 2016; Ktari *et al.*, 2017; Mendes *et al.*, 2014).

Durante la última década, cepas de *S. pneumoniae* Multidrogorresistentes (MDR) se diseminaron rápidamente en todo el mundo. La multidrogorresistencia se define como la resistencia a más de dos clases de los siguientes agentes: cefuroxima, un macrólido, penicilina, tetraciclina (si está disponible) y trimetoprim-sulfametoxazol (Hourri *et al.*, 2017). En el presente estudio se observaron que los serotipos 19A, 19F, 35B, 10A, serogrupo 15, 23B, 24F, 6C y serotipos no tipificables presentaron multidrogorresistencia. Esto se observa en países como China, Corea, Brasil y Canadá en donde los serotipos MDR más comunes fueron 19F y 19A además de otros serotipos como 23F, 6A, 6B, 9V, 14, 28A, 35A (Zhao *et al.*, 2017; Hyun Kim *et al.*, 2016; Christophe *et al.*, 2018; Adam *et al.*, 2018).

## X. CONCLUSIONES

A pesar de la introducción de las vacunas antineumocócica conjugada en el programa nacional de vacunación aún se observa la presencia de serotipos vacunales principalmente el serotipo 19A y 3. Así como un incremento en la prevalencia de los serotipos no vacunales tales como 35B, 6C, 15B, 7C, 15A,15C, 23B y no tipificables.

Los serotipos como 19A, 6C y serogrupo 15 se encontraron con mayor frecuencia en pacientes con enfermedades neumocócicas invasivas, mientras que, los serotipos 3, 35B, 7C, 15C, 23B y no tipificables se presentaron en diagnósticos de enfermedades neumocócicas no invasivas.

Respecto a la susceptibilidad antimicrobiana, se observó que, las cepas de *S. pneumoniae* estudiadas en este periodo aun presentan una importante sensibilidad a penicilina en cepas no meníngeas, pero una mayor resistencia en cepas meníngeas; lo mismo se presenta con cefotaxima meníngea y no meníngea. Se encontraron altos porcentajes de resistencia para cloranfenicol, eritromicina y TMP/SMX. Por esta razón las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son indispensables en el manejo de ENI y ENNI, de esta manera los antibióticos para su tratamiento pueden ser prescritos de manera adecuada.

En general, el monitoreo de la resistencia bacteriana y la distribución de los serotipos prevalentes son importantes para poder controlar y prevenir enfermedades neumocócicas en la población, a su vez, los datos obtenidos pueden tener relevancia para el diseño de vacunas apropiadas para la región en estudio.

## XI. PERSPECTIVAS

Se debe continuar con la vigilancia de los serotipos prevalentes para poder comparar el recambio que se producen cada año, así como las enfermedades neumocócicas que producen en los distintos grupos etarios de nuestra población, lo cual nos permitirá comprender el impacto que tienen las vacunas antineumocócicas actuales y de futura introducción.

De igual manera es de suma importancia seguir monitoreando los niveles de susceptibilidad que presenta *S. pneumoniae* a antibióticos para poder tener un mayor control de este microorganismo y evitar que cepas multidrogorresistentes vayan en aumento. En especial, se debe tener más precaución con antibióticos como eritromicina, cloranfenicol y TMP/SMX, ya que diversos estudios respaldan los hechos de que la resistencia de estos ha ido incrementando en los últimos años.

Son necesarios estudios a nivel molecular de las cepas resistentes a  $\beta$ -lactámicos y macrólidos con el fin de determinar los genes de resistencia que se encuentran circulando en nuestra población.

## XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adam, H. J., Golden, A., Karlowsky, J., Baxter, M., Nichol, K., Martin, I., Demczuk, W., Mulvey, M.R., Gilmour, M.W., Hoban, D.J., y Zhanel, G. (2018). Analysis of multidrug resistance in the predominant *Streptococcus pneumoniae* serotypes in Canada: the SAVE study, 2011–15. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(7), vii12–vii19.
- Agudelo, C., Castañeda, E., Corso, A., Rigueira, M., Brandilione, M., Brandao, A., Maldonado, A., Hormazabal, J., Tamargo, I., Echaniz, G., Soto, A., Viveros M., Hernandez, I., Chamorro, G., Weiler, N., Sanchez, J., Feris, J., Camou, T., Garcia, G., Spadola, E., Patares, D., Gabastou, J., Di Fabio, J., y Grupo Sireva II. (2009). Resistencia a antibióticos no betalactámicos de aislamientos invasores de *Streptococcus pneumoniae* en niños latinoamericanos. SIREVA II, 2000-2005. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 25(4), 305-315.
- Aguirre, L. J. (2013). *Serotipos de Streptococcus pneumoniae y enfermedad neumocócica invasora antes y después de la introducción de la vacuna neumocócica conjugada heptavalente en la población del Hospital Infantil de México Federico Gómez, enero 2005 a diciembre 2011*. Tesis de posgrado, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.
- Álvarez de Luna, F., Causse del Rio, M., Ibarra González, A., Rodríguez López, F., y Casal Román, M. (2005). *Streptococcus pneumoniae*: resistencia antibiótica y serotipos en un periodo de dos años. *Revista Española de Quimioterapia*, 18(3), 217-221.
- Brown, J., Hammersmidt, S., y Orihuela, C. (2015). *Streptococcus Pneumoniae: Molecular Mechanisms of Host-Pathogen Interactions*. USA: Academic Press. Recuperado el 10 de Febrero de 2018, de <https://books.google.com.mx/books?id=2dCcBAAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=streptococcus+pneumoniae&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj7soS9rdHZAhUEJt8KHUeOAPYQ6AEIKzAA#v=onepage&q=streptococcus%20pneumoniae&f=false>
- Castro, A. M. (2014). *Bacteriología médica basada en problemas* (Segunda ed.). D.F, México: El Manual Moderno. Recuperado el 10 de Febrero de 2018, de

[https://books.google.com.mx/books?id=0\\_AWCQAAQBAJ&pg=PT65&dq=factores+de+virulencia+de+streptococcus+pneumoniae&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwuiq7qgtLZAhUliOAKHTz7Dy4Q6AEIODAC#v=onepage&q=factores%20de%20virulencia%20de%20streptococcus%20pneumoniae&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=0_AWCQAAQBAJ&pg=PT65&dq=factores+de+virulencia+de+streptococcus+pneumoniae&hl=es419&sa=X&ved=0ahUKEwuiq7qgtLZAhUliOAKHTz7Dy4Q6AEIODAC#v=onepage&q=factores%20de%20virulencia%20de%20streptococcus%20pneumoniae&f=false)

- Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). (2010). Manual para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos. *Medicina & Laboratorio*, 16(1-2), 62-69.
- Chochua, S., Metcalf, B. J., Li, Z., Walker, H., Tran, T., McGee, L., & Beall, B. (2017). Invasive Serotype 35B pneumococci including an expanding serotype switch lineage, United States, 2015–2016. *Emerging Infectious Diseases*, 23(6), 922-930.
- Choi, E. H., Zhang, F., Lu, Y. L., y Malley, R. (2015). Capsular Polysaccharide (CPS) Release by Serotype 3 Pneumococcal Strains Reduces the Protective Effect of Anti-Type 3 CPS Antibodies. *Clinical and Vaccine Immunology*, 23, 162-167.
- Christophe, B., Mott, M., da Cunha, G., Caierao, J., d’Azevedo, P., y Dias, C. (2018). Characterisation of *Streptococcus pneumoniae* isolates from invasive disease in adults following the introduction of PCV10 in Brazil. *Journal Medical of Microbiology*, 67, 687–694.
- Cillóniz, C., Ardanu, C., Vila, J., y Torres, A. (2016). What is the clinical relevance of drug-resistant pneumococcus? *Infectious diseases*, 22(3), 227-234.
- Comité Asesor de Vacunas de la AEP. (2016). *Manual de Vacunas en línea de la AEP*. Obtenido de <http://vacunasaep.org/printpdf/documentos/manual/cap-31>
- De la Osa, M., Reyes, K., Reyes, U., Perea, A., Luévanos, A., Hernández, I., y Ávila, A. (2017). Sensibilidad antimicrobiana de cepas de *Streptococcus pneumoniae*. Período 2012-2015, en niños menores de 6 años que cursaron con neumonía. *Revista Médico-Científica de la Secretaría de Salud Jalisco*, 4(3), 161-166.
- Devine, V. T., Cleary, D. W., Jefferies, J. M., Anderson, R., Morris, D. E., Tuck, A. C., Gladstone, R. A., O’Doherty, G., Kuruparan, P., Bentley, S. D., Faust, S. N., Clarke, S. C. (2017). The rise and fall of pneumococcal serotypes carried in the PCV era. *Vaccine*, 35(9), 1293–1298.
- Echániz, G., Soto, A., Miranda, G., Carnalla, N., Velázquez, M., Solórsano, F., y SIREVA Network México. (2015). *Streptococcus pneumoniae* Serotypes Identified in

- Mexican Children with Invasive Disease Before and After the Introduction of PCV7 (1993-2012). *Archives of Medical Research*, 46(2), 149-153.
- Echániz, G., Velázquez, M. E., Carnalla, M. N., Soto, A., Solórzano, F., Pérez, A., Di Fabio, J. (2009). Antimicrobial Susceptibilities and Capsular Types of Invasive *Streptococcus pneumoniae* Isolated in Children in Mexico City. *Microbial Drug Resistance*, 3(2).
- Echeverri, F., y Giraldo, C. (2006). Distribución de serotipos y patrón de sensibilidad in vitro a diferentes antibióticos de cepas de *Streptococcus pneumoniae* obtenidas de niños menores de 15 años en aislamientos invasores en el departamento de Risaralda, 1999 a 2004. *Asociación Colombiana de Infectología*, 10(1), 7-14.
- Forbes, B., Sahm, D., y Weissfeld, A. (2007). *Diagnóstico Microbiológico* (Duodécima ed.). Madrid, España: Medica Panamericana. Recuperado el 2 de marzo de 2018, de <https://books.google.com.mx/books?id=239cauKqSt0C&pg=PA220&lpg=PA220&dq=solubilidad+de+bilis&source=bl&ots=2Qdveg5JIn&sig=wBzrCrxM8r4-S4KMiQ3WvjSf6ZM&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjO3fDw9dHZAhUyhOAKHUU0DaMQ6AEIaDAK#v=onepage&q=solubilidad%20de%20bilis&f=false>
- Habib, M., Porter, B., y Satzke, C. (2014). Capsular serotyping of *Streptococcus pneumoniae* using the Quellung reaction. *Journal of Visualized Experiments* (84), 1-4.
- Hackel, M., Lascols, C., Bouchillon, S., Hilton, B., Morgenstern, D., y Purdy, J. (2013). Serotype prevalence and antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates among global populations. *Vaccine*, 31, 4881–4887.
- Hernández, S., Moraga-Llop, F., Díaz, A., Sevilla, M., Ciruela, P., Muñoz-Almagro, C., Codina, G., Campis, M., Garcia-Garcia, J., Esteva, C., Izquierdo, C., Gonzalez-Perris, S., Martinez-Osorio, J., Uriona, S., Salleras, L., y Domínguez, A. (2020). Failures of 13-Valent Conjugated Pneumococcal Vaccine in age-appropriately vaccinated children 2–59 months of age, Spain. *Emerging Infectious Diseases*, 26(6), 1147-1155.
- Houri, H., Rafiei, S., Saeed, Y., Fallah, F., Rahbard, M., y Karimi, A. (2017). Distribution of capsular types and drug resistance patterns of invasive pediatric *Streptococcus*

- pneumoniae* isolates in Teheran, Iran. *International Journal of Infectious Diseases*, 57, 21-26.
- Hwa Choi, E., Zhang, F., Ying-Jie Lu, Y.-J., y Malley, R. (2016). Capsular Polysaccharide (CPS) Release by Serotype 3 Pneumococcal Strains Reduces the Protective Effect of Anti-Type 3 CPS Antibodies. *Clinical and Vaccine Immunology*, 23, 162-167.
- Hyun Kim, S., Kwon Bae, I., Park, D., Lee, K., Young Kim, N., AmSong, S., y Hwan Shin, J. (2016). Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Streptococcus pneumoniae* Isolates Causing Invasive and Noninvasive Pneumococcal Diseases in Korea from 2008 to 2014. *BioMed Research International*, 2016, 1-7.
- Instituto de Salud Pública de Chile. (2015). Vigilancia de laboratorio de *Streptococcus pneumoniae* procedente de enfermedad invasora. Chile,2007-2015. *Boletín Instituto De Salud Pública De Chile*, 5(7), 3-16.
- Instituto Nacional de Salud. (1994). *Programa de vigilancia de los serotipos y resistencia antimicrobiana de Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae*. Manual de Procedimientos, Organización Panamericana de la Salud, SIREVA II. Obtenido de <http://www.salud.gob.mx/cnts/pdfs/LABS-manual-vigilancia-serotipos.pdf>
- Instituto Nacional de Salud Pública. Datos por sexo y por grupos de edad sobre las características de los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* y *Neisseria meningitidis* en procesos infecciosos. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública-Secretaría de Salud, 2017.
- Instituto Nacional de Salud Pública. Reporte de serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *S. aureus*. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública-Secretaría de Salud, 2016.
- Isturiz, R., Sings, H. L., Hilton, B., Arguedas, A., Reinert, R.-R., & Jodar, L. (2017). *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A: worldwide epidemiology. *Expert Review of Vaccines*, 16(10), 1007-1027.
- Jiménez, M. E. (2003). *Prevalencia de resistencia a la penicilina y antibióticos comunes en Streptococcus pneumoniae, 1995-2001*. (Tesis de licenciatura), Universidad Nacional Autónoma de México, D.F, México.

- Kasper, D. L., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L., & Loscalzo, J. (2017). *Harrison. Manual de Medicina Interna* (19a ed.). Nueva York, Estados Unidos : McGraw-Hill.
- Köhler, C. (2014). *Vacunas antineumocócicas*. Guía práctica de enfermedades y vacunas. Obtenido de <http://www.vacunacion.com.ar/index.php/enfermedades-y-vacunas/a-neumococo/120-enfermedades-y-vacunas/a-neumococo>
- Ktari, S., Jmal, I., Mroua, M., Maalej, S., Ben Ayed, N. E., Mnif, B., Rhimi, F., y Hammami, A. (2017). Serotype distribution and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains in the south of Tunisia: A five-year study (2012–2016) of pediatric and adult populations. *International Journal of Infectious Diseases*, 65, 110-115.
- Macías, M., Gentile, A., Tregnaghi, M., Ruvinsky, R., Falleiros, L. H., Santolaya, M. E., y Martín, A. (2012). Consenso de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica (SLIPE) sobre Epidemiología del Neumococo en Latinoamérica. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría*, 1-24.
- Mejía, L. (2011). *Prevalencia del serotipo 6C en aislamientos invasores de Streptococcus pneumoniae de hospitales participantes en la Red-Sireva México*. (Tesis de maestría), Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Mor.
- Mendes, R. E., Costello, A. J., Jacobs , M. R., Biek , D., Critchley, I. A., & Jones, R. N. (2014). Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of USA *Streptococcus pneumoniae* isolates collected prior to and post introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 80, 19-25.
- Méndez, S., Losada, I., y Agulla, A. (2015). *Streptococcus pneumoniae*: distribución de serotipos, sensibilidad antibiótica, factores de riesgo y mortalidad en Galicia en un periodo de 2 años. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(9), 579–584.
- Miyazaki, H., Shibuya, R., Midorikawa, N., Chang, B., Ohnishi, M., y Ohnishi, M. (2016). Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Japan after introduction of the routine immunization program. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 1-7.

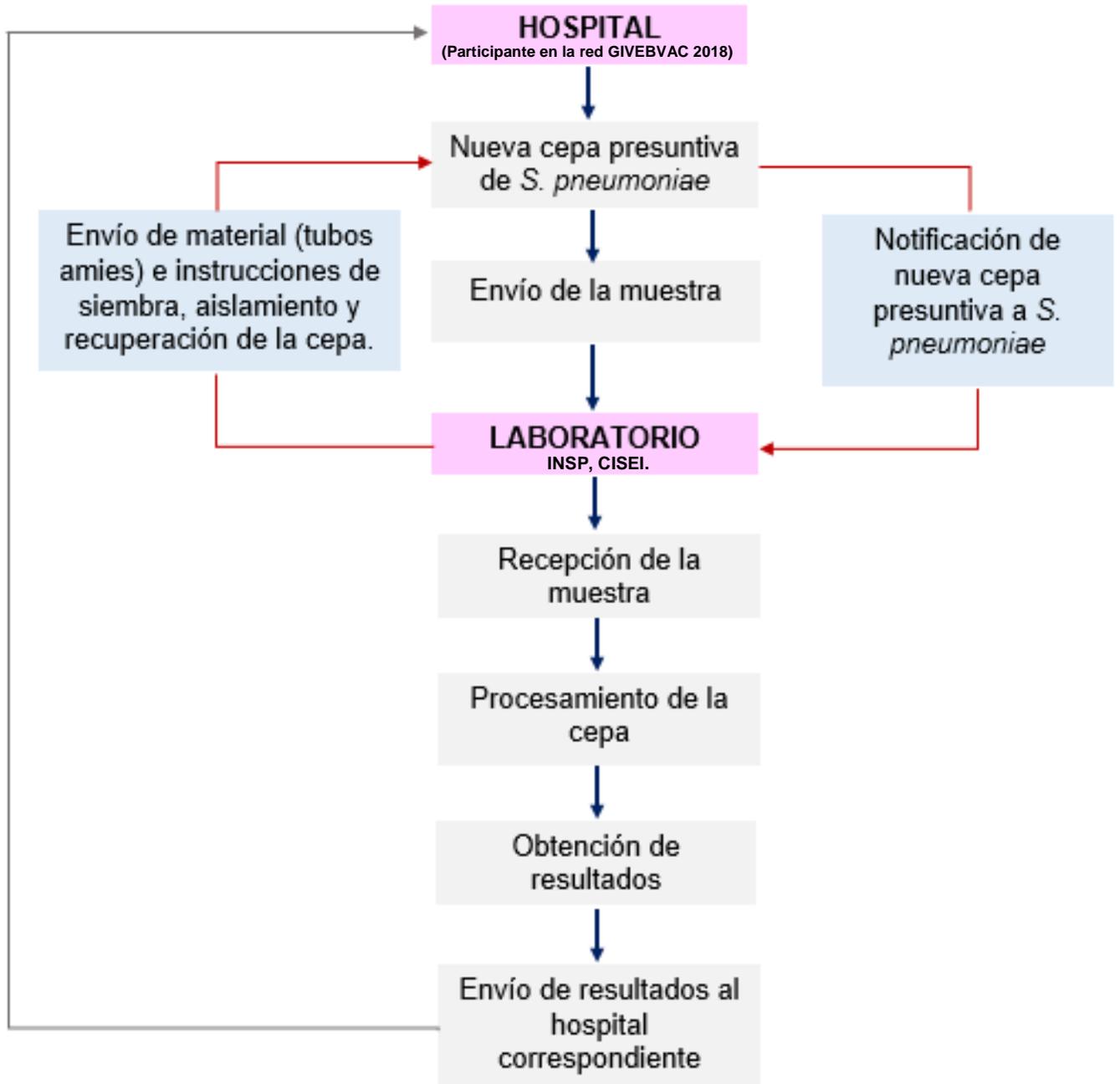
- Moore, M., y Pilishvilli, T. (2015). Pneumococcal Disease. En J. Hamborsky, A. Kroger, y Wolfe C., *Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases* (Decimotercera ed., págs. 279-295). Washington D.C: Public Health Foundation. Obtenido de <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/table-of-contents.pdf>
- Morano, R., Pérez, F., Brosa, M., y Pérez, I. (2011). Análisis de coste-efectividad de la vacunación antineumocócica en España. *Gaceta Sanitaria*, 25(4), 267-273. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2011.03.006>
- Nakano, S., Fujisawa, T., Ito, Y., Chang, B., Suga, S., Noguchi, T., y Ichiyama, S. (2016). Serotypes, antimicrobial susceptibility, and molecular epidemiology of invasive and non-invasive *S. pneumoniae* isolates in paediatric patients after the introduction of 13-valent conjugate vaccine in a nationwide surveillance study conducted in Japan in 20. *Vaccine*, 34, 67-76.
- Organización Mundial de la Salud. (26 de noviembre de 2015). *Pneumococcal Disease*. Obtenido de <https://www.who.int/biologicals/vaccines/pneumococcal/en/>
- Organización Panamericana de la Salud PAHO/WHO. (2016). *SIREVA II*. Recuperado el 2020, de Programa de Vigilancia de los Serotipos y Resistencia Antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1894&Itemid=1630&lang=en](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=1894&Itemid=1630&lang=en)
- Ovalle, M. C. (2007). *La actual importancia de Streptococcus pneumoniae en salud*. (Tesis de pregrado), Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.
- Pan, F., Han, L., Huang, W., Tang, J., Xiao, S., Wang, C., Qin, H., y Zhang, H. (2015). Serotype Distribution, Antimicrobial Susceptibility, and Molecular Epidemiology of *Streptococcus pneumoniae* Isolated from Children in Shanghai, China. *PLoS ONE*, 10(11), 1-10.
- Prado J, V. (2001). Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*. *Revista Chilena de Infectología*, 18(1), 6-9.
- Redondo, E. (10 de Julio de 2016). *Neumoexpertos*. Recuperado el 18 de Mayo de 2020, de Aspectos inmunológicos de la vacunación : <https://neumoexpertos.org/2016/07/10/aspectos-inmunologicos-de-la-vacunacion/>

- Ruiz, J., Simarro, E., y Gómez, J. (2001). Resistencias y tratamiento de *Streptococcus pneumoniae*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 19(4), 191-195.
- Ruvinsky, R., Gentile, A., Regueira, M., y Corso, A. (2002). Infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*: estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 100(1), 31-43.
- Ruvinsky, R. O. (2001). *Streptococcus pneumoniae*: Epidemiología y resistencia a antimicrobianos de las enfermedades invasoras en Latinoamérica. *Revista Chilena de Infectología*, 18(1), 10-14. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182001000000003>
- Secretaria de Salud. (4 de Octubre de 2015). *Secretaria de Salud*. Recuperado el 5 de Septiembre de 2017, de Cartillas Nacionales de Salud: <https://www.gob.mx/salud/articulos/cartillas-nacionales-de-salud-12270>
- Siber, G. R., Klugman, K. P., y Mäkelä, P. H. (2008). *Pneumococcal vaccines: the impact of conjugate vaccine*. Washington DC, United States of America: ASM Press.
- Soto, A., Carnalla, N., Solórzano, F., Arredondo, J. L., Arzate, P., Tinoco, J. C., Echániz, G. (2016). *Streptococcus pneumoniae* as cause of infection in infants less than 60 days of age: serotypes and antimicrobial susceptibility. *International Journal of Infectious Diseases*, 42, 69-73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.12.001>
- Swanson, D. S., & Harrison, C. J. (2017). Playing “Whack-a-Mole” with pneumococcal serotype eradication. *Pediatrics*, 140(5), 1-5.
- Taroco, R., Seija, V., y Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Chapingo, México.
- Vanderkooi, O. G., Scheifele, D. W., Girgenti, D., Halperin, S. A., Patterson, S. D., Gruber, W. C., Emini, E.A., Scott, D.A., y Kellner, J. D. (2012). Safety and immunogenicity of a 13-valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in healthy infants and toddlers given with routine pediatric vaccinations in Canada. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 31(1), 72-77.
- Villena, R. (2017). Vacunas e infecciones respiratorias. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28(1), 72-82.

- Weiser, J. N., Ferreira, D. M., & Paton, J. C. (2018). *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nature Reviews Microbiology*, 16, 355-367.
- Winn, W. C., Allen, S. D., Janda, W. M., Konneman, E. W., Schreckenberger, P. C., Procop, G. W., & Woods, G. L. (2006). *Koneman. Diagnóstico Microbiológico*. Madrid, España: Medica Panamericana. Recuperado el 5 de febrero de 2018, de <https://books.google.com.mx/books?id=jyVQueKro88C&pg=PR19&dq=factores+de+virulencia+de+streptococcus+pneumoniae&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwuiq-7qgtLZAhUliOAKHTz7Dy4Q6AEIKDAA#v=onepage&q=factores%20de%20virulencia%20de%20streptococcus%20pneumoniae&f=false>
- Zhao, C., Li, Z., Zhang, F., Zhang, X., Ji, P., Zeng, J., Hu, B., Hu, Z., Liao, K., Sun, H., Zhang, R., Cao, B., Zhuo, C., Jia, W., Mei, T., Chu, Y., Xu, X., Yang, Q., Jin, Y., Fu, Q., Xu, X., Li, H., Wang, L., Ni, Y., Hongjie, L., y Wang, H. (2017). Serotype distribution and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates from 17 Chinese cities from 2011 to 2016. *BMC Infectious Diseases*, 17(804), 1-12.

### XIII. ANEXOS

#### ANEXO 1. OBTENCIÓN DE MUESTRAS



## ANEXO 2. PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO

### ○ **Agar Columbia base con 10% de sangre de cordero**

Para preparar el Agar Columbia se debe pesar la cantidad deseada y resuspenderla en agua destilada, agitar y hervir el medio hasta disolver perfectamente el polvo (Tabla 9). Esterilizar por 15 minutos a 121°C. Posteriormente, se debe dejar enfriar entre 45°C-50°C para agregar 50 ml sangre de cordero, homogenizar y vaciar el medio en cajas Petri, dejar enfriar, rotular las cajas con el nombre del medio y fecha de preparación. Finalmente, conservar a 4°C hasta su utilización.

**Tabla 9.** Preparación del medio de cultivo agar Columbia

Componentes	Cantidad
Base de agar Columbia	21.25 g
Levadura	2.5 g
Agua destilada	500 ml

### ○ **Agar Müeller-Hinton con 5% de sangre de cordero**

Para la preparación del medio agar Müeller-Hinton se debe pesar la cantidad deseada, resuspender en agua destilada, agitar y hervir el medio hasta disolver perfectamente el polvo (Tabla 10). Esterilizar a 121°C por 15 minutos. Posteriormente, dejar enfriar entre 45°C-50°C para agregar 25 ml sangre de cordero, homogenizar y vaciar el medio en cajas

Petri, dejar enfriar, rotular las cajas con el nombre del medio y fecha de preparación, conservar a 4°C hasta la utilización.

**Tabla 10.** Preparación del medio de cultivo agar Müller-Hinton

Componentes	Cantidad
Agar Müller-Hinton	19 g
Agua destilada	500 ml

o **Caldo Müller-Hinton con 3% de sangre de caballo**

Resuspender el caldo Müller-Hinton en agua destilada, agitar perfectamente y hervir el medio hasta disolver completamente el polvo; posteriormente, esterilizar por 15 minutos a 121°C (Tabla 11). Consecutivamente, dejarlo enfriar para agregar por cada 100 ml de caldo Müller-Hinton 6 ml de sangre lisada de caballo, la cual debe estar previamente diluida al 50% con agua destilada estéril.

**Tabla 11.** Preparación del medio de cultivo caldo Müller-Hinton

Componentes	Cantidad
Caldo Müller-Hinton	21 g
Agua destilada	500 ml

### ANEXO 3. SEROTIPIFICACIÓN

**Tabla 12.** Sistema del “tablero de ajedrez” para la tipificación de *S. pneumoniae* con el empleo de antisueros polivalentes.

Pool	P	Q	R	S	T	Tipos/grupos no vacunales
A	1	18*	4	5	2	
B	19*	6	3*	8		
C	7*				20	24*,31,40
D			9*		11*	16*,36,37
E			12*	10*	33*	21,39
F				17*	22*	27,32*,41*
G						29, 34, 35*, 42, 47*
H	14	23*		15*		13, 28*
I						25*, 38, 43, 44, 45, 46, 48

\*Grupos.

Fuente: Statens Seruminstitut, Copenhague.

**Tabla 13.** Clave para la tipificación de los serotipos de *S. pneumoniae* con antisueros producidos por el Statens Seruminstitut de Copenhague, Dinamarca.

<i>S. pneumoniae</i>	Tipo de <i>S. pneumoniae</i>	Reacción positiva en:				Antisuero/Antisueros recomendados para la identificación del tipo
		Grupo de suero	Tipo de suero	Grupo de suero	Factor de suero	
Tipo 1	1	A, P	1			Suero tipo 1
Tipo 2	2	A, T	2			Suero tipo 2
Tipo 3	3	B, R	3			Suero tipo 3
Tipo 4	4	A, R	4			Suero tipo 4
Tipo 5	5	A, S	5			Suero tipo 5
Grupo 6	6 A	B, Q		6	6b	Factor de suero 6b
	6B	B, Q		6	6c	Factor de suero 6c
	6C	B, Q		6	6d	Factor de suero 6d
Grupo 7	7F	C, P		7	7b	Factor de sueros 7b+7c
	7 A	C, P		7	7b, 7c	Factor de suero 7c
	7B	C, P		7	7e	Factor de suero 7e
	7C	C, P		7	7f	Factor de suero 7f
Tipo 8	8	B, S	8			Suero tipo 8
Grupo 9	9 A	D, R		9	9d	Factor de sueros 9d+9g
	9L	D, R		9	9b	Factor de sueros 9b+9e
	9N	D, R		9	9b, 9e	Factor de suero 9e
	9V	D, R		9	9d, 9g	Factor de suero 9g
Grupo 10	10F	E, S		10	10b	Factor de sueros 10b, 10d, 10f
	10 A	E, S		10	10d	Factor de sueros 10d, 10b
	10B	E, S		10	10d, 10d	Factor de sueros 10b, 10d
	10C	E, S		10	10b, 10f	Factor de suero 10f
Grupo 11	11F	D, T		11	11b, 11g	Factor de sueros 11g+11f
	11 A	D, T		11	11c	Factor de sueros 11c+11b
	11B	D, T		11	11b, 11f, 11g	Factor de sueros 11f+11g
	11C	D, T		11	11b, 11c, 11f	Factor de sueros 11c+11f
	11D	D, T		11	11b, 11c	Factor de sueros 11b+11c+11f
Grupo 12	12F	E, R		12	12b	Factor de sueros 12b+12c
	12 A	E, R		12	12c	Factor de sueros 12c+112b
	12B	E, R		12	12b, 12c, 12e	Factor de suero 12e
Tipo 13	13	H	13			Suero tipo 13
Tipo 14	14	H, P	14			Suero tipo 14
Grupo 15	15F	H, S		15	15b, 15c	Factor de sueros 15b+15c
	15 A	H, S		15	15c	Factor de sueros 15c+15b
	15B	H, S		15	15c, 15e, 15h	Factor de sueros 15h
	15C	H, S		15	15e	Factor de sueros 15e+15h
Grupo 16	16F	D		16	16b	Factor de suero 16b
	16 A	D		16	16c	Factor de suero 16c
Grupo 17	17F	F, S		17	17b	Factor de suero 17b
	17A	F, S		17	17c	Factor de suero 17c
Grupo 18	18F	A, Q		18	18c, 18e, 18f	Factor de suero 18f
	18 A	A, Q		18	18d	Factor de suero 18d
	18B	A, Q		18	18e	Factor de sueros 18e+18c
	18C	A, Q		18	18c, 18e	Factor de sueros 18c+18f
Grupo 19	19F	B, P		19	19b	Factor de suero 19b
	19 A	B, P		19	19c	Factor de suero 19c
	19B	B, P		19	7h	Factor de sueros 7h
	19C	B, P		19	19f, 7h	Factor de suero 19f
Tipo 20	20	C, T	20			Suero tipo 20
Tipo 21	21	E	21			Suero tipo 21
Grupo 22	22F	F, T		22	22b	Factor de suero 22b
	22 A	F, T		22	22c	Factor de suero 22c
Grupo 23	23F	H, Q		23	23b	Factor de suero 23b
	23 A	H, Q		23	23c	Factor de suero 23c
	23B	H, Q		23	23d	Factor de suero 23d

<i>S. pneumoniae</i>	Tipo de <i>S. pneumoniae</i>	Reacción positiva en:				Antisuero/Antisueros recomendados para la identificación del tipo
		Grupo de suero	Tipo de suero	Grupo de suero	Factor de suero	
Grupo 24	24F	C		24	24d	Factor de suero 24d+24c
	24 A	C		24	24c, 24d	Factor de suero 24c
	24B	C		24	24e	Factor de suero 24e
Grupo 25	25F	I		25	25b	Factor de suero 25b
	25A	I		25	25c	Factor de suero 25c
<b>Tipo 27</b>	27	F	27			Suero tipo 27
<b>Grupo 28</b>	28F	H		28	28b	Factor de suero 28b
	28 A	H		28	28c	Factor de suero 28c
<b>Tipo 29</b>	29	G	29			Suero tipo 29
<b>Tipo 31</b>	31	C	31			Suero tipo 31
Grupo 32	32F	F		32	32a	Factor de sueros 32 a+32b
	32A	F		32	32a, 32b	Factor de sueros 32b
Grupo 33	33F	E,T		33	33b	Factor de sueros 33b+20b
	33 A	E,T		33	33b, 20b	Factor de suero 20b
	33B	E,T		33	33f	Factor de sueros 33f+33e+6a
	33C	E,T		33	33e, (33f)	Factor de suero 33e+ 33f
	33D	E,T		33	33f, 6a	Factor de sueros 6a
<b>Tipo 34</b>	34	G	34			Suero tipo 34
Grupo 35	35F	G		35	35a, 35b	Factor de sueros 35a + 35b
	35A	G		35	35a, 35c	Factor de sueros 35a+ 35c+ 29b+42a
	35B	G		35	35a, 35c, 29b	Factor de sueros 35a+ 29b
	35C	G		35	35a, 35c, 42a	Factor de sueros 35a+ 42a
<b>Tipo 36</b>	36	D	36			Suero tipo 36
<b>Tipo 37</b>	37	D	37			Suero tipo 37
<b>Tipo 38</b>	38	I	38			Suero tipo 38
<b>Tipo 39</b>	39	E	39			Suero tipo 39
<b>Tipo 40</b>	40	C	40			Suero tipo 40
Grupo 41	41F	F		41	41a, 41b	Factor de suero 41b
	41A	F		41	41a	Factor de sueros 41a+41b
<b>Tipo 42</b>	42	G	42			Suero tipo 42
<b>Tipo 43</b>	43	I	43			Suero tipo 43
<b>Tipo 44</b>	44	I	44			Suero tipo 44
<b>Tipo 45</b>	45	I	45			Suero tipo 45
<b>Tipo 46</b>	46	I	46			Suero tipo 46
Grupo 47	47F	G		47	47a	Factor de sueros 47a+ 43b
	47A	G		47	47a, 43b	Factor de suero 43b
<b>Tipo 48</b>	48	I	48			Suero tipo 48

Fuente: Statens Seruminstitut, Copenhagen



Cuernavaca, Mor., a 31 de agosto de 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Dania Stephanie Brito Beltrán**, con el título del trabajo: **Serotipificación y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones durante 2018**. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

ATENTAMENTE

**M. EN C. MARÍA NOEMÍ CARNALLA BARAJAS**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

MARIA NOEMI CARNALLA BARAJAS | Fecha:2020-08-31 14:04:21 | Firmante  
Uj9CSORkijporwT0KOBk2XOpVe2/WAB8+Ayj4aM5+6LD0u7eC9QlgwHE8CAorrNxO+hHjSn2XZb0+m8z7nJIZW5GrO2AESSdRsz9pGpQpDbslmZ8GswH5SWHmNqxP  
YfUmNZZba0GUQsXzEIJDDNvOezymIbUFVzki1MpPtq6J8b6gyEP2x0094KF/yAHWQfg85rReFpNw2KUWQZBqzC9TID0EaYC+6XUe3OoWh4giXdFcdxjbP1eCaQMyp  
FA/S11MLoBW8P9an9fK7qaR3auAQyKL7X2lbnhtOYBMBokNHMxmjE+pce+lmzOGh09opHWNAAFrCCoJdVSO0AAwrNjw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



vGH0CI

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/oE1sjRVpr9ZZpWV9inao0gj5ZnLP4uD2>



Cuernavaca, Mor., a 31 de agosto de 2020 \_\_

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**P R E S E N T E.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: Dania Stephanie Brito Beltrán, con el título del trabajo: Serotipificación y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones durante 2018. Quien optó por la Modalidad de Titulación: Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

ATENTAMENTE

\_\_\_\_\_  
BIÓL. RITA BARRETO GONZÁLEZ



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

RITA BARRETO GONZALEZ | Fecha:2020-08-31 13:09:07 | Firmante  
ITS1PcjDFV0w6cRvT6MdMvYbVwytGet13JRwoc2COPK6dLNb59Unol1EMZkGoQFHbACsV3Dnx4HTSjvvobZs0KhQNxMidtK3G1RF0gXS3jQqRifJzdLwm8MYoJzHMK3TFGO  
tjx0GKWCULf2ZMtpKQLH3+pjNZn8EO1kuKE0H1BkFFAWrF2m5c8/auz7dUMNwW85gGgRrOCvsXRhKXhxrEhCj36wOuu2f+skIW320YclNmWUdjKVodgalOYjDsryZTYrH15Sx  
A/0+sJdvbnrVmiHpl6OFIw4hvhLZu0l8rz2hftle2y35+05SAZzSwNbDBoWS/nenvO+nNVwNdiyQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



Ufma9K

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/MAu0z1Q9eK7FRpNtzilw7S2BDipK8K5M>



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Licenciatura en Ecología

Programa Educativo de Calidad Acreditado por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Mor., 2 de septiembre del 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**PRESENTE.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Dania Stephanie Brito Beltrán**, con el título del trabajo: **Serotipificación y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones durante 2018**. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI (  ) NO (  )

ATENTAMENTE

**DRA. LILIA MONTOYA LORENZANA**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

#### Sello electrónico

LILIA MONTOYA LORENZANA | Fecha:2020-09-01 02:22:13 | Firmante

i0ACdLh0CVWssV6Qe1K1XzRpT+Vz7Mc9E/meKEWPqJ/UG3xERCXOmw3FW3HUA6QI/Xz+6ft0tyPAPb90uhNY/CQ48qKLgPGBcWxeZd5KAIXJdpr4ee2UKRldpXM7PpA+lvPzUuILMwYyAQXicfVD4GjxXQnjSScVRRIRBCW+TUVQM/KUDhPf1okBCuxltO01hlagah/OltRdzmBITdbgA1O5AbSRg4rUwyPFdyLPZ6N6PVR/664V/xmyA4npf3VyJmg8nU4BbBvWGFixnT+s1oEglZWJdfCpGJ3m8FNyCIQYp/n0kQ4MTw6C/3NRypMgbHoPp+9HzF3odw9RBZ4x8A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[opyMq5](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/mexbCUZaZuP8kmgQUbGzGk7A2o9PYBRE>



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad Acreditado por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Mor., 31 de agosto de 2020

**DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**PRESENTE.**

Por este conducto comunico a Usted, que he revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **Darla Stephanie Brito Beltrán**, con el título del trabajo: **Serotipificación y susceptibilidad antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* causante de infecciones durante 2018**. Quien optó por la Modalidad de Titulación: **Trabajo de Desarrollo Profesional por Etapas**, como lo marca el Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En calidad de miembro de la comisión revisora, expreso la siguiente decisión:

VOTO A FAVOR: SI () NO ()

ATENTAMENTE

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. MARÍA LUISA CASTREJÓN GODÍNEZ**