

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA



GLORIA DEL CARMEN SALAZAR MELGAR
QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, ABRIL 2010

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, holding a staff. Above him is a crown with a cross on top. To the left is a castle tower, and to the right is a lion. Below the central figure are two figures, one on the left and one on the right, both holding staffs. The seal is surrounded by Latin text: "CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA" at the top and "SARAS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER" at the bottom.

**Serotipificación de *S. pneumoniae* en cepas aisladas de
muestras de niños menores de 5 años diagnosticados con
neumonía y meningitis que asisten al Hospital Roosevelt**

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

GLORIA DEL CARMEN SALAZAR MELGAR

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, ABRIL 2010

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. María Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Todopoderoso por iluminarme el camino a seguir y que siempre está conmigo en los buenos y malos momentos, y por haberme regalado algo hermoso como lo es mi familia.

A MIS PADRES: Porque creyeron en mi y porque me sacaron adelante, dándome ejemplos dignos de superación y entrega, porque en gran parte gracias a ustedes, hoy puedo ver alcanzada mi meta, ya que siempre estuvieron impulsándome en los momentos más difíciles de mi carrera, y porque el orgullo que sienten por mi, fue lo que me hizo ir hasta el final.

A MI HERMANO: José Eduardo Salazar Melgar por estar siempre a mi lado y brindarme siempre su apoyo en todo momento.

A MIS TIOS Y TIAS: Por demostrarme su cariño, aprecio y estar conmigo en todo momento.

A MIS PRIMOS Y PRIMAS: Porque cada uno ha formado parte de mi vida, por brindarme su cariño y apoyo.

A MI ASESOR: Jorge Matheu por brindarme siempre su apoyo incondicional y amistad.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS: Por los momentos que hemos compartido y por brindarme su cariño, su amistad y apoyo.

ACTO QUE AGRADEZCO

A DIOS: Por darme la vida y estar siempre conmigo.

A MIS PAPAS: Por estar siempre a mi lado, demostrarme su afecto, cariño y comprensión y darme siempre lo mejor de ellos.

A LA UNIVERSIDAD SAN CARLOS DE GUATEMALA: Por darme la oportunidad de formarme como profesional.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA Y A LA ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA: Por brindarme las herramientas necesarias para el aprendizaje de mi carrera.

A TODOS MIS CATEDRATICOS: Que de alguna manera influyeron en mi formación profesional y personal.

Y de manera especial a todas las personas que me han demostrado su cariño y que han convivido conmigo a lo largo de toda mi vida.

INDICE	PAG.
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	3
III. ANTECEDENTES	
A. Historia.....	5
B. Clasificación taxonómica.....	6
C. Descripción del agente.....	6
D. Componentes de la superficie de <i>S. pneumoniae</i> y antigenicidad	
1. Polisacárido capsular	6
a. Estructuras de los polisacáridos capsulares (epitopos) de los principales serotipos de <i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
i. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 1	7
ii. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 2.....	7
iii. Estructura del polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 3.....	8
iv. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 4	8
v. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 5	8
vi. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 7B.....	8
vii. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 7F.....	8
viii. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 8.....	9
ix. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 11F.....	9
x. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 12A.....	9
xi. Estructura del polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> tipo 14	9
xii. Estructura del polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 15A.....	9

xiii. Estructura de los polisacáridos capsulares de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 15 B y 15C.....	10
xiv. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 15F.....	10
xv. Estructura del polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 17A.....	10
xvi. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 18B.....	10
xvii. Estructura del polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 19A....	10
xviii. Estructura del polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 23.....	11
xix. Estructura de los polisacáridos capsulares de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 32F y 32A	11
xx. Estructura de el polisacárido capsular de <i>S. pneumoniae</i> Tipo 33F.....	11
2. Polisacárido de la pared celular.....	11
3. Antígeno de Forssman.....	11
4. Proteína A	12
E. Factores de virulencia	
1. Cápsula polisacárida.....	12
2. Pared celular.....	13
3. Neumolisina.....	13
4. Neuraminidasa.....	14
5. Enzimas autolíticas.....	14
6. Proteasa de la Inmunoglobulina A.....	15
7. Hialuronidasa.....	15
8. Peróxido de hidrógeno.....	15

F. Epidemiología clínica de las enfermedades neumocóccicas.....	16
G. Transmisión y colonización de <i>S. pneumoniae</i>	17
1. Etapas de la portación a la infección.....	18
H. Patogénesis.....	18
I. Cuadro clínico y complicaciones.....	19
1. Otitis media y complicaciones.....	19
2. Meningitis.....	20
3. Neumonía neumocóccica.....	20
4. Enfermedad neumocóccica invasora.....	20
J. Diagnostico de laboratorio	
1. Condiciones de cultivo.....	21
2. Condiciones atmosféricas.....	21
3. Coloración gram.....	22
4. Susceptibilidad a la optoquina.....	22
5. Solubilidad en bilis.....	22
K. Serotipificación.....	23
L. El desarrollo de las vacunas neumocóccicas.....	24
IV. JUSTIFICACIÓN.....	28
V. OBJETIVOS.....	29
VI. HIPOTESIS.....	30

VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
VIII. RESULTADOS.....	35
IX. DISCUSION DE RESULTADOS.....	42
X. CONCLUSIONES.....	46
XI. RECOMENDACIONES.....	47
XII. REFERENCIAS.....	48
XIII. ANEXOS.....	53

I. RESUMEN

En el presente estudio se llevó a cabo la serotipificación de *S. pneumoniae* en cepas aisladas de muestras de niños menores de 5 años diagnosticados con neumonía y meningitis que asistieron al Hospital Roosevelt durante el año 2006.

Se analizaron 89 cepas de *S. pneumoniae* las cuales fueron recolectadas durante el mismo año. Las cepas se procesaron de la siguiente manera: se sembraron en agar sangre de carnero (ASC) al 5%, se incubaron en medio anaeróbico durante 24 horas. Luego de la incubación se observaron colonias pequeñas, grisáceas y mucoides, rodeadas de una zona verde de hemólisis parcial en el agar sangre. A las colonias se les realizó pruebas bioquímicas de optoquina, solubilidad en bilis y Api strept. La serotipificación se realizó por la reacción de Quellung con los antisueros obtenidos de Statens Serum Institut Copenhagen, Dinamarca y el sistema del tablero de ajedrez con el empleo de 12 antisueros polivalentes.

De las 89 muestras analizadas, se determinó que el mayor número de cepas de *S. pneumoniae* se aisló de niños diagnosticados con neumonía 73(82.02%). Así mismo los serotipos mas comunes en general fueron el 14(14.61%), 18(12.36%), 2(10.11%), 6 (8.99%), 7(8.99%), 19(7.86%), 10(6.74%), 9(5.62%) y 1(5.62%). Se observó que la distribución de serotipos no fueron los mismos en niños con neumonía que con meningitis siendo los mas frecuentes en neumonía el 14 (14.61%), 18 (12.36%), 19 (7.86%), y en meningitis el 2 (6.74%) ,6 (3.37%) y el 1 (3.37%).

Por otro lado el mayor número de cepas de *S. pneumoniae* se aisló de aspirado traqueal 26(29.21%) y hemocultivo 26(29.21%). Así también los diferentes pacientes que asistieron al Hospital Roosevelt y los cuales fueron diagnosticados con neumonía y meningitis durante ese año fueron niños de diferentes edades con una edad promedio de 6 meses, se determinó que el mayor número de cepas analizadas se aislaron de niños menores de 2 años de edad.

Por último se determinó una comparación entre los serogrupos y serotipos de *S. pneumoniae* que se encuentran en las diferentes vacunas y los serogrupos encontrados en las cepas analizadas. Los resultados obtenidos muestran que la vacuna que más se adecua a nuestro medio es la vacuna heptavalente, ya que presenta una cobertura de 71.42%.

En base a los resultados obtenidos en este estudio se recomienda realizar más investigación de serotipificación y subtipificación de *S. pneumoniae* a nivel nacional para conocer la distribución de los diferentes serotipos. Así como también diseñar e implementar estrategias mediante la vigilancia epidemiológica que determine los serotipos más frecuentes en la población guatemalteca para una adecuada vacunación que prevenga la enfermedad neumocócica en nuestro país.

II. INTRODUCCION

Las infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae* son catalogadas como problemas prioritarios de salud pública tanto en los países industrializados como en aquellos menos desarrollados (1).

Es responsable de una elevada morbilidad y mortalidad ya que es uno de los principales agentes causales de una gran variedad de enfermedades entre ellas infecciones benignas como otitis media y sinusitis agudas, e infecciones severas como septicemia, meningitis y neumonía (1).

La neumonía, como síndrome, es responsable de la muerte de aproximadamente 4 millones de niños menores de 5 años de edad y de un número similar de adultos mayores 60 años en el mundo. La mayoría de estas muertes son atribuibles a *S. pneumoniae* como agente único o asociado a virus respiratorios (2).

Según datos aportados por el Banco Interamericano de Desarrollo (BID), en Latinoamérica se producen cada año 9.000 casos de meningitis bacteriana aguda (MBA), con un 10% de letalidad promedio y 30% de secuelas (2).

Las tasas de morbilidad asociadas con *S. pneumoniae* son particularmente elevadas en los niños pequeños, los ancianos y los pacientes con problemas predisponentes como asplenia, enfermedades crónicas (cardiopatías, neumopatías, nefropatías, diabetes y alcoholismo) o enfermedades inmunosupresoras, principalmente el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (2).

Estos mismos grupos son más susceptibles a la invasión neumocócica al torrente circulatorio y al sistema nervioso central, y por lo tanto, presentan mayor riesgo de muerte. La incidencia de infección neumocócica varía geográficamente, aunque se han observado incrementos en las tasas de morbilidad tanto en países desarrollados como en desarrollo (2).

Desde 1993, estudios de vigilancia epidemiológica en países de América Latina –coordinado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y llevados a cabo por la Red del Sistema Regional de Vacunas (SIREVA) – han encontrado una alta incidencia de neumonía y meningitis en niños menores de 2 años de edad (2).

Los serotipos responsables de las enfermedades neumocócicas varían con la edad, la zona geográfica y la época estudiada.

En Guatemala se conoce poco sobre los serotipos más comunes de *S. pneumoniae* implicados en el desarrollo de infecciones invasivas en niños menores de 5 años.

Tomando en cuenta las graves consecuencias que puede ocasionar este patógeno, el propósito del presente estudio fue determinar los serotipos invasivos más comunes en niños menores de 5 años diagnosticados con neumonía y meningitis en el Hospital Roosevelt y determinar si estos serotipos se adecuan a las vacunas disponibles en el mercado.

III. ANTECEDENTES

A. Historia

Streptococcus pneumoniae es también llamado neumococo; fue identificado por Pasteur en 1881 en saliva de pacientes que padecían de rabia (3,4).

S. pneumoniae fue denominado “**microbio septicémico de la saliva**” por Pasteur y *Micrococcus pasteurii* por Sternberg en 1881 (5).

La asociación entre el neumococo y la neumonía fue descrita por primera vez por Friedlander y Talamon in 1883, pero la neumonía neumococal estaba confusa con otros tipos de neumonía hasta el descubrimiento de la Tinción de Gram en 1884 (4).

En 1886, este microorganismo fue denominado **neumococo** por Fraenkel debido a que causaba enfermedad pulmonar (5).

Posteriormente, según sugerencia de Weichselbaum (1886), en 1920, fue denominado *Diplococcus pneumoniae* debido a su morfología (5).

De 1915 a 1945, se determinó que la estructura química y la antigenicidad de la cápsula polisacárida del neumococo estaban asociados con la virulencia; más de 80 serotipos de neumococo fueron descritos en 1940 (4).

Los esfuerzos para desarrollar una vacuna efectiva contra el neumococo empezaron en 1911. De cualquier modo, con la llegada de la penicilina en los años de 1940, el interés en la vacuna declinó, hasta que se observó que varios pacientes murieron a pesar de tener un tratamiento antibiótico (4).

En 1974, en la octava edición del Manual de Bacteriología de Bergey, el neumococo fue denominado *Streptococcus pneumoniae* (Chester 1901), denominación aún vigente (5).

La primera vacuna contra neumococo fue implementada en Estados Unidos en 1977 (4).

La primera vacuna conjugada contra neumococo fue implementada en estados Unidos en el año 2000 (4).

B. Clasificación taxonómica

Streptococcus pneumoniae pertenece al género *Streptococcus* de la familia *Streptococcaceae*. El género *Streptococcus* está conformado por cocos Gram positivo, anaerobios facultativos, catalasa negativa y citocromo-oxidasa negativa. Los estreptococos clínicamente relevantes son homofermentadores y el producto final de la fermentación de la glucosa es el ácido láctico (5).

C. Descripción del Agente

Los neumococos son bacterias Gram positivo, encapsuladas, con morfología de diplococos lanceolados, con 0,5 a 1,25 μm de diámetro, arregladas en pares o en cadenas cortas (división en un plano), inmóvil, no formadora de esporas; típicamente crecen de modo difuso en caldo con suero y requieren medios complejos para su desarrollo (5,6).

El cultivo en agar sangre de carnero presenta colonias lisas, pequeñas, brillantes, circundadas por un halo verde de α ~~hémis~~ hémis. Son anaerobios facultativos y algunos aislamientos clínicos son exigentes en CO_2 . El neumococo pierde su viabilidad a 60°C por 30 minutos, se lisa fácilmente, es soluble en bilis, sensible a la optoquina (5).

D. Componentes de la superficie de *S. pneumoniae* y antigenicidad

Los principales componentes de la superficie del neumococo son: la membrana plasmática, la pared celular y la cápsula (Anexo 1).

La pared celular consiste de un esqueleto de peptido-glucano, típico de las bacterias Gram positivo. En este esqueleto se anclan el polisacárido capsular, el polisacárido C de la pared celular y las proteínas (5).

1. Polisacárido capsular

El polisacárido capsular (PS) es un determinante esencial para la antigenicidad del neumococo y todo el sistema de la clasificación en serotipos se basa en su diversidad antigénica. El polisacárido capsular es el responsable de la diferenciación de ésta única especie en 90 serotipos (26).

La estructura química y las propiedades inmunológicas del polisacárido capsular han aportado el conocimiento para establecer la inmunogenicidad de este polisacárido, el cual está negativamente cargado y exhibe componentes ácidos como el D-glucurónico, uniones fosfodiéster con fosforilcolina, piruvatos y grupos con azúcares neutros. Los anticuerpos específicos reconocen al epítipo conformacional.

Los estudios de la estructura química de este epitopo (polisacárido capsular) revelan que la mayoría de los tipos poseen una cápsula cargada negativamente (excepto 7, 14 que son neutros) y poseen componentes ácidos como el ácido glucurónico (en los tipos 1, 2, 3, 5, 8, 9A y 9V) o fosfato en enlaces fosfodiéster (en los tipos 6A, 6B, 11A, 15F, 19F, 19A y 23F) (5).

La cápsula consiste en polímeros de alto peso molecular conformados por unidades repetitivas de oligosacáridos, ligados por enlaces covalentes a la pared celular (Anexo 2).

La cápsula es considerada el principal factor de virulencia de esta bacteria, debido a su resistencia a la fagocitosis (5).

a. Estructuras de los polisacáridos capsulares (epitopos) de los principales serotipos de *Streptococcus pneumoniae*

i. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 1

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 1 está compuesto de residuos de ácido D-galactopiranosilurónico y residuos de 2-acetamido-4-amino-2,4,6-trideoxi-D-galactopiranosil. El polisacárido está formado de unidades repetidas de trisacáridos (6) (Anexo 3).

ii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 2

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 2 está compuesto de D-glucosa (Glc) (3 partes) y L-ramnosa (Rha) (3 partes). El polisacárido está compuesto de unidades repetidas de hexasacáridos (7) (Anexo 4).

iii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 3

La estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 3 está compuesto de D-glucosa (Glc) (2partes) y presenta una estructura lineal (8) (Anexo 5).

iv. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 4

El polisacárido de *S. pneumoniae* tipo 4 esta compuesto de D-galactosa (Gal) (1 parte), 2-acetamido-2,6-dideoxigalactosa (FucNAc) (1 parte), 2-acetoamido-2-deoxi-D-galactosa (GalNAc) (1parte), 2-acetamido-2-deoximanososa (ManNAc) (1 parte) y ácido piruvico. El polisacárido está formado de unidades repetidas de tetrasacárido (9) (Anexo 6).

v. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 5

El polisacárido de *S. pneumoniae* tipo 5 esta compuesto D-glucosa (Glc) (2 partes), 2-acetoamido-2,6-dideoxigalactosa (FucNAc) (1 parte), 2-acetoamido-2,6-dedeoxiD-xilo-hexos-4-ulosa (D-Sug) (1 parte), 2-acetoamido-2,6-dedeoxi-L-talosa (L-PneNAc) (1 parte). El polisacárido está formado de unidades repetidas de pentasacárido presentando (10) (Anexo 7).

vi. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 7B

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 7B está compuesto de 2-acetoamido-2-deoxi-D-glucosa (GlcNAc) (1 parte), D-ramnosa (Rhap) (3 partes), D-glucosa (Glc) (1 parte), D-ribitol (Rib) (1 parte) y grupo fosafato. El polisacárido está conformado por unidades repetidas de heptasacárido (11) (Anexo 8).

La base estructural para la formula antigénica en el serotipo 7 de *S. pneumoniae* es el disacárido α -D-GlcpNAc-(1→2)- α -L-Rhap-(1→2).

vii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 7F

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 7F es un polímero neutral de alto peso molecular compuesto de 2-acetamido-2-deoxi-D-galactosa (GalNAc) (1 parte), 2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa (GlcNAc) (1 parte), D-glucosa (Glc) (1 parte), D-galactosa (Gal) (2partes), L-ramnosa (Rha) (2 partes), y residuos de 2-O-acetil-L-ramnosa. El polisacárido esta formado por unidades repetidas de heptasacárido (12) (Anexo 9).

viii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 8

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 8 Es un polímero de alto peso molecular compuesto de D-glucosa (Glc) (3 partes) y D-galactosa (Gal) (1parte). El polisacárido capsular está formado de unidades repetidas de tetrasacárido y presenta una estructura lineal (13) (Anexo 10).

ix. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 11F

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 11F está compuesto de 2-acetamido-2-deoxy-D-glucosa (GlucNAc) (1 parte), D-glucosa (Gluc) (1 parte), D-galactosa (Gal) (2 partes), ribitol (Rib)(1 parte), fosfato (1 parte) y O-acetil (2 partes). El polisacárido es un polímero lineal de unidades repetidas de tetrasacárido. El *S. pneumoniae* tipo 11B y 11C tienen las mismas unidades repetidas de tetrasacáridos como el tipo 11F, pero se diferencian de la O-acetilación y del reemplazo de ribitol fosfato por glicerol fosfato en el tipo 11C (14).

x. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 12A

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 12A es un polímero de alto peso molecular compuesto de 2-acetamido-2-deoxy-D-fructosa (FucNAc) (1parte), 2-acetoamido-2-deoxy-D-glucosa (GlcNAc) (2 partes), 2-acetoamido-2-D-manosa (ManNAc) (1 parte), D-glucosa (Glc) (2 partes). El polisacárido está compuesto de unidades repetidas de hexasacárido (15) (Anexo 11).

xi. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 14

El polisacárido capsular de este tipo está compuesto por glucosa (Gluc) (1parte), galactosa (Gal) (2 partes), N-acetilglucosamina (GlcNAc) (1 parte) y por N-acetil ácido neuraminico (NcuNAc) (1 parte) (16)(Anexo 12).

xii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 15A

El polisacárido capsular de este tipo esta compuesto de D-galactosa (3 partes), D-glucosa (1 parte), 2-acetamido-2-deoxy-D-glucosa (1 parte) y glicerol (1 parte). El polisacárido es un polímero de alto peso molecular lineal de unidades repetidas de pentasacárido (17).

xiii. Estructura de los polisacáridos capsulares de *S. pneumoniae* Tipos 15B y 15C

Los polisacáridos capsulares de este tipo están compuestos de 2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa (GlcNAc) (1 parte), D-galactosa (Gal) (3 partes), D-glucosa (Glc) (1 parte), y grupo fosfato (1 parte). Los polisacáridos están formados por unidades repetidas de pentasacáridos (18) (Anexo 13).

xiv. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 15F

El polisacárido capsular producido por *S. pneumoniae* tipo 15F está compuesto de D-galactosa (Gal) (3 partes), D- glucosa (Glc) (1 parte), 2-acetamido-2-deoxi-D-glucosa (GlcNAc) (1 parte), fosfato(1 parte) y O-acetil (2 partes). El polisacárido es un polímero lineal de alto peso molecular unidades repetidas de pentasacárido (19) (Anexo 14).

xv. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 17A

El polisacárido capsular está compuesto de D-glucosa (3 partes), D-galactosa (3 partes), D-ramnosa (2 partes), y grupo acetilo. El polisacárido está compuesto de unidades repetidas de octasacáridos (20) (Anexo 15).

xvi. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 18B

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 18B está compuesto por D-glucosa (Glc) (3 partes), D-galactosa (Gal) (1 parte), D-ramnosa (Rha) (1 parte), y un grupo fosfato glicerol. El polisacárido esta conformado de unidades repetidas de pentasacárido con un grupo fosfato glicerol en la posición 3 (21) (Anexo 16).

xvii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 19A

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 19A está compuesto de residuos de 2-acetamido-2deoxi-D-manosa (ManNAc) (1 parte), D-glucosa (Glc) (1 parte), L-ramnosa (Rha) y un grupo fosfato. El polisacárido es lineal y esta compuesto de esos componentes en unidades repetidas (22) (Anexo 17).

xviii. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 23

El polisacárido capsular de *S. Pneumoniae* tipo 23 contiene D-galactosa (Gal) (1 parte), D-glucosa (Glc) (1 parte), D-ramnosa (Rha) (2 partes), glicerol y fosfatos (23) (Anexo 18).

xix. Estructura de los polisacáridos capsulares de *S. pneumoniae* Tipo 32F y 32A

Ambos polisacáridos están compuestos de unidades repetidas de tetrasacárido con un grupo de fosforilcolina (PCho) unido a la posición 3 del residuo de β -L-ramnosa. Ambos polisacáridos son substituidos con un grupo O-acetil en la posición 2 del mismo residuo de β -L-ramnosa. Además el tipo 32A es substituido con otro grupo O-acetil en la posición 4 (24) (Anexo 19).

xx. Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 33F

El polisacárido capsular de *S. pneumoniae* tipo 33F está compuesto de D-galactosa (Gal) (5 partes), D- glucosa (Glc) (1 parte) y un grupo O-acetil. El polisacárido es un polímero de alto peso molecular compuesto de unidades repetidas de hexasacáridos (25) (Anexo 20).

2. Polisacárido de la pared celular

El polisacárido de la pared bacteriana, denominado también polisacárido C (C-PS) es un complejo de ácido teicoico, principal componente de la pared celular del neumococo. Está ligado covalentemente al peptido-glucano a través de residuos de ácido murámico. La cantidad de éste antígeno varía de cepa a cepa, pero es igual en casi todos los tipos del neumococo (antígeno común) (26).

El C-PS puede activar el sistema del complemento por la vía alterna (5).

3. Antígeno de Forssman

Está formado de ácido lipoteicoico y ácido teicoico, similar al polisacárido C de la pared celular y está ligado covalentemente a lípidos. El antígeno de Forssman se encuentra uniformemente distribuido en la membrana plasmática y también está localizado en las moléculas de C-PS expuestas en la superficie. Las partes lipídicas de este antígeno están ancladas en la doble capa de lípidos de la membrana plasmática del neumococo.

La presencia de este antígeno inhibe fuertemente la autolisina neumocócica y también regula la actividad de la enzima mureína hidrolasa, que tiene actividad en la lisis bacteriana (5).

4. Proteína A

Es una proteína de superficie (PspA), con estructura antigénica variable en las diferentes cepas de neumococo. Es una proteína transmembranal, de difícil purificación y de función desconocida (26).

Parece ser requerida para una completa expresión de la virulencia del neumococo pues está presente en la mayoría de los aislamientos recuperados de pacientes (5-27).

E. Factores de virulencia

La virulencia del neumococo ha sido atribuida a sus diferentes estructuras, principalmente a las de la superficie. Algunos de los factores de virulencia tales como la cápsula y las proteínas de superficie determinan la resistencia a la fagocitosis por los polimorfonucleares, lo que permite un mecanismo de escape eficiente de las defensas del hospedero. Otros factores de virulencia como la pared celular y la neumolisina (Ver 5.3) están involucrados en la inflamación causada por la infección (5).

1. Cápsula polisacárida

Entre las estructuras interesantes de esta bacteria hay que mencionar la cápsula externa a la pared celular, de naturaleza polisacárida compleja. Es la piedra angular de la patogénesis de las infecciones neumocócicas. La composición antigénica de la cápsula es variable en diferentes cepas y permite agrupar al *S. pneumoniae* en más de 90 diferentes serotipos capsulares y aproximadamente 45 serogrupos. Se definen como pertenecientes a un mismo serogrupo, los serotipos que presentan inmunogenicidad cruzada, por ej. 6A y 6B. La identificación de cada serotipo se realiza mediante una reacción antígeno-anticuerpo utilizando antisueros específicos (anticuerpos) que reaccionan con el polisacárido capsular (antígeno), lo que da como resultado una hinchazón de la cápsula, fenómeno conocido como "*quellung*", término que en alemán significa hinchazón (28).

La virulencia y la invasividad del neumococo varían de acuerdo con los serotipos y depende de la composición química y de la cantidad de polisacárido capsular producido. Estas diferencias determinan la supervivencia de la bacteria en la circulación y las posibilidades de ocasionar enfermedad invasora, relacionada con la activación del complemento y su depósito en la cápsula, resistencia a la fagocitosis y capacidad para inducir anticuerpos (26).

La cápsula es el principal factor de virulencia y es la que inhibe la fagocitosis e interfiere en la destrucción de la bacteria en el interior del fagolisosoma. Esta acción antifagocitaria se debe al bloqueo de la actividad opsonizante de la vía alternativa del complemento. Además el polisacárido capsular libre interfiere la respuesta específica humoral al neutralizar gran parte de los anticuerpos producidos (31).

2. Pared celular

La pared celular de *S. pneumoniae* es una estructura rígida que rodea la membrana citoplasmática y que está constituida por peptidoglicanos a los que se unen proteínas, hidratos de carbono y lipoproteínas. El peptidoglicano tiene acción antigénica. Asociados a éste se encuentran los ácidos lipoteicoicos que afloran a la superficie y actúan como mediadores de la adherencia a las células epiteliales de la mucosa. En la pared celular también se encuentran los determinantes antigénicos de grupo, el polisacárido C y un antígeno de tipo como la proteína M.

El polisacárido C está constituido por ácidos teicoicos unidos covalentemente al peptidoglicano de la pared celular en su parte externa.

Este polisacárido es propio de *S. pneumoniae* y se halla presente en todos los aislamientos.

La proteína M se encuentra en la capa más externa de la pared. No se le conoce relación con la virulencia. Su interés residirá en la posibilidad de tipificación de las cepas no capsuladas (30, 32).

3. Neumolisina

Se considera un factor de virulencia; es producida por todos los serotipos de neumococo, a diferencia de otras proteínas esta molécula no está expuesta en la superficie, se encuentra en el citoplasma y se libera debido a la acción de la autolisina. Así se considera como una exotoxina tiol-activada, interviene en los mecanismos de patogenicidad evadiendo los sistemas de defensa del huésped. Se

liga a la membrana celular del hospedero por medio de receptores de colesterol, donde se polimeriza hasta formar canales transmembranales que anteceden a la lisis a través de la formación de poros.

Pequeñas cantidades de neumolisina inhiben el sistema respiratorio; la quimiotaxis y la actividad antimicrobiana de los macrófagos (PMN), igualmente afectan la respuesta de mitógenos, la actividad opsónica.

También inhibe la respuesta proliferativa de los linfocitos y activa el complemento por la vía alternativa, lo cual indica que es parte importante de la capacidad invasiva y de la virulencia del neumococo.

La neumolisina reduce la habilidad de las células ciliadas de los bronquios para eliminar el moco, esto facilita la diseminación de la infección. Esta enzima actúa sobre otras células endoteliales del pulmón y es fuente del proceso de lesión que causa edema alveolar y hemorragia durante la neumonía (4,26, 27, 28,33).

4. Neuraminidasa

Es una proteína de 107 kDa y está asociada con la pared celular. Causa daño en el hospedero separando el ácido siálico terminal de las glicoproteínas, glicolípidos y oligosacáridos presentes en la superficie de las células y en fluidos corporales. Esta separación facilitaría la adhesión de la bacteria a las células epiteliales del hospedero (26, 27, 30).

Esta proteína hidroliza las glucoproteínas y los glicolípidos celulares y por lo tanto tiene un papel importante en la diseminación y multiplicación de *S. pneumoniae* en los tejidos infectados. Disminuye la viscosidad del mucus que reviste el epitelio respiratorio y altera la estructura de los oligosacáridos, exponiendo los receptores y facilitando la colonización (28).

5. Enzimas autolíticas

Estas enzimas están relacionadas con el proceso de división bacteriana (separación de las células hijas) y de la transformación genética; parecen estar relacionadas con funciones biológicas básicas del neumococo. Están localizadas en la membrana celular. En la forma inactiva se unen al ácido lipoteicoico y a través de éste a la membrana de la bacteria.

La principal enzima autolítica es la N-acetil-murámico-alanina amidasa (autolisina), la cual rompe la unión entre el ácido murámico y la alanina del

mucopéptido de la pared celular, durante la fase estacionaria del crecimiento de la bacteria. La función natural de la autolisina es la degradación de la pared celular durante la división celular; sin embargo, bajo algunas condiciones, tales como la fase estacionaria del crecimiento de la bacteria, induce a la lisis celular.

La liberación y actividad de la neumolisina desde el citoplasma celular necesariamente requiere del acoplamiento a la autolisina. Al romper el peptidoglicano libera productos que condicionan inflamación, posibilidad de que salgan otras proteínas y fundamentalmente la neumolisina. (5, 30,33).

6. Proteasa de la inmunoglobulina A

La Proteasa de la Inmunoglobulina A (IgA) es una enzima extracelular presente en bacterias como *S. pneumoniae* que causan infección en las mucosas de humanos. Estas proteínas son excretadas en el medio de cultivo, principalmente al inicio de la fase logarítmica de crecimiento (26,30).

Esta proteasa hidroliza e inactiva la inmunoglobulina A1 presente en las mucosas, lo que facilita su adherencia y colonización inicial. Es interesante considerar que estas proteasas de la IgA son producidas también por otras bacterias capaces de producir infecciones invasoras severas como *H. influenzae* tipo b y *N. meningitidis*. La función de ésta proteasa en la patogénesis de las infecciones neumocócicas no está todavía bien determinada (5, 28,30).

7. Hialuronidasa

Es una proteína de superficie la cual es esencial para que el neumococo exprese completamente su virulencia. Esta facilita la diseminación e invasión tisular mediante la degradación del componente ácido hialurónico de la matriz extracelular. Igualmente esta proteína altera la permeabilidad tisular en las heridas infectadas, en la neumonía, en la septicemia, bacteremia y meningitis (33).

8. Peróxido de hidrógeno

Estudios recientes realizados en animales, han sugerido que existe acción tóxica oxidante del peróxido de hidrógeno producido por el neumococo sobre las células epiteliales del hospedero el cual esta implicado en la respuesta inflamatoria (5,30).

F. Epidemiología clínica de las enfermedades neumocócicas

El *Streptococcus pneumoniae* causa un amplio espectro de enfermedades tanto en niños como en adultos (Anexo 21). Es uno de los agentes más frecuentes de meningitis después de *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae* (4, 5,37).

En países en vías de desarrollo, es el agente etiológico más frecuente de infecciones respiratorias bajas, y se calcula que cada año se producen aproximadamente 1.200.000 muertes asociadas a infecciones respiratorias bajas neumocócicas y alrededor de 140.000 causadas por meningitis en niños menores de 5 años (1, 5,38).

A su vez, el *S. pneumoniae* es la causa más importante de otitis media aguda (OMA) en todo el mundo (30-50% de los casos) (38,39).

Las infecciones de las vías respiratorias bajas (neumonía), tracto respiratorio superior (sinusitis), y canal auditivo (otitis media) constituyen la gran mayoría de infecciones causadas por *S. pneumoniae* (2).

Aunque la enfermedad neumocócica severa (neumonía necrotizante, meningitis y bacteremia) constituye un pequeño grupo de enfermedades, estas infecciones invasoras son responsables de la gran mayoría de mortalidad relacionada con *S. pneumoniae*. Independientemente de la raza, los niños menores de dos años de edad sufren una incidencia 10 veces mayor de bacteremia, en comparación con poblaciones similares de adultos (2,5).

La neumonía neumocócica es responsable de 10 a 25% de todas las neumonías, estimándose una tasa de mortalidad mundial de más de 1 millón de decesos anuales en niños menores de 5 años (2).

La enfermedad neumocócica es más frecuente en los 2 primeros años de vida, disminuyendo luego rápidamente después de los 10-15 años y volviendo a aumentar su incidencia en los mayores de 65 años (2).

El hombre es infectado exclusivamente por *S. pneumoniae*, no existe otro reservorio en la naturaleza (5).

La vía de transmisión del neumococo es aérea, a través de gotitas de saliva de portadores o de enfermos. Es un organismo sensible al calor, al frío y a la

desección, por lo tanto la transmisión requiere de un contacto estrecho de persona a persona. Todas las edades, razas y sexos son susceptibles a esta enfermedad (5).

Estudios realizados en diversos países sobre la distribución de los serotipos prevalentes, han demostrado que la frecuencia varía con el paso del tiempo, el cuadro clínico, la edad y la región geográfica (3,5).

Los portadores pueden albergar diferentes serotipos al mismo tiempo o en tiempos diferentes, de modo continuo o intermitente. La distribución de los serotipos en pacientes y portadores sanos menores de 2 años, es diferente a la de los adultos. Algunos serotipos son aislados en todas las edades en cuanto otros son aislados más frecuentemente de niños, tales como 6A, 6B, 14, 18, 19F, 19A, 23F (5).

Ha sido demostrado que los serotipos más comunes que causan enfermedad invasora en los países desarrollados difieren de los aislados en los países en desarrollo (5).

En el 15% de los casos, la adquisición de una nueva cepa de *S. pneumoniae* se asocia a otitis media aguda (OMA) o a infección invasiva neumocócica (IIN).

La capacidad invasiva de los más de 90 serotipos diferentes de *S. pneumoniae* es variable. Solo un pequeño porcentaje de estos serotipos es altamente invasivo y, por lo tanto, responsable de gran parte de las afecciones pediátricas por este microorganismo. En niños menores de 2 años, los serogrupos 6 y 14 son los primeros en la lista de los que causan infección invasiva. Para niños mayores y adultos no existe un grupo característico de serotipos que causen patología, es decir que la gama de serotipos es más variada (38).

Los serotipos más frecuentes (6, 14, 19, 23) son comunes a la mayoría de los continentes, aunque para los países del cono sur de Latinoamérica se describe una alta proporción del serotipo 5 (12 a 17% en la Argentina, Chile y Uruguay), como también de los serotipos 1 y 18.

De acuerdo con una recopilación de estudios recientes sobre colonización nasofaríngea, los diez serotipos más frecuentemente asociados a infección invasiva neumocócica (IIN) e infección no invasiva en los países en desarrollo y los países desarrollados son diferentes (38) (Anexo 22).

G. Transmisión y colonización de *S. pneumoniae*

S. pneumoniae comúnmente coloniza de manera asintomática la nasofaringe de niños y adultos sanos. Este patógeno potencial encapsulado se considera un componente de la microbiota normal del tracto respiratorio superior en humanos y la vía aérea es la forma principal de transmisión de persona a persona. Las infecciones neumocócicas son precedidas por la colonización bacteriana de la mucosa nasofaríngea, de la cual, la bacteria forma parte de la microbiota comensal sin causar enfermedad (2).

La colonización nasofaríngea de *S. pneumoniae* es más común en niños que en adultos, y los niños juegan un papel importante en la transmisión de la enfermedad neumocócica en la comunidad, debido a su alta tasa de colonización y al método de transmisión (gotillas respiratorias). De hecho, los niños influyen en las tasas de colonización de los adultos (40).

1. Etapas desde la portación a la infección

El *S. pneumoniae* se encuentra habitualmente en la nasofaringe de individuos sanos (25 a 76% en los niños y 5 a 40% en adultos). La mayor tasa de portación se registra en niños menores de 2 años (Anexo 23).

Prácticamente la puerta de entrada de todas las infecciones neumocócicas es la nasofaringe (38).

El contacto con el *S. pneumoniae* es frecuente durante la infancia, pero el desarrollo o no de infección invasiva neumocócica (IIN) dependerá de factores asociados al hospedero (Anexo 24) (38).

H. Patogénesis

S. pneumoniae coloniza habitualmente la nasofaringe y se transmite a través de las secreciones respiratorias. En ausencia de lesión del epitelio respiratorio, *S. pneumoniae* permanece en estado comensal. La pérdida de integridad del epitelio respiratorio por infecciones virales, tabaquismo, agentes irritantes o alérgenos favorecen la génesis de la infección. La bacteria se adhiere a las células epiteliales de la mucosa de la nasofaringe a través de receptores de la fibronectina. El microorganismo escapa a la fagocitosis y a la acción del complemento y se extiende hacia otras zonas del tracto respiratorio o penetra por la mucosa para alcanzar la circulación sistémica a través de la circulación linfática cervical. El paso de *S.*

pneumoniae a tráquea y bronquios se ve facilitado por la alteración de los mecanismos inespecíficos de defensa y de las IgA secretoras debido a la producción de neumolisinas. Una vez en el alveolo, *S. pneumoniae* activa el neumocito tipo II que incrementa la expresión del receptor del factor activador de plaquetas. *S. pneumoniae* se adhiere a través de la fosforilcolina del ácido teicoico de la pared celular a este receptor.

De esta manera, *S. pneumoniae* entra dentro de la célula. Esta adhesión al neumocito tipo II y a la célula endotelial se definirá en dos fases: una inicial y rápida estimulada por un mecanismo dependiente de la trombina y una segunda fase más lenta estimulada por el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa y la interleucina (IL) 1 α . Desde aquí, *S. pneumoniae* puede pasar a la sangre y a través de ella, alcanzar otras localizaciones (5, 31,41-43).

La proliferación de *S. pneumoniae* en los tejidos provoca una gran respuesta inflamatoria por la liberación de toxinas y enzimas. Serán los macrófagos alveolares y los leucocitos polimorfonucleares los que, en presencia de complemento y anticuerpos específicos contra la cápsula, puedan fagocitar la bacteria y controlar el avance de la infección (31).

I. Cuadro clínico y complicaciones

Streptococcus pneumoniae causa infección del oído medio, senos paranasales, traquea, bronquios, y pulmones por diseminación directa de microorganismos desde la nasofaringe, que es lugar de colonización. Como consecuencia de diseminación hematogena desde el foco infeccioso puede causar infección en el sistema nervioso central, válvulas cardíacas, huesos, articulaciones, y cavidad peritoneal. La bacteriemia primaria ocurre de manera más frecuente en niños que en adultos, pero si no se instaura tratamiento suele aparecer la fuente de infección (44).

1. Otitis media y sinusitis

Casi todos los niños experimentan uno o más episodios de otitis media durante los primeros años de vida, probablemente debido a factores predisponentes tanto físicos como inmunológicos. *S. pneumoniae* es la principal causa bacteriana de otitis media en niños, y supone del 30 al 60% de los episodios con cultivo positivo. Parece que la infección por un nuevo serotipo está precedida por la colonización nasofaríngea (aunque la colonización ocurre sin infección en la mayoría de los casos). La infección previa por virus respiratorios causa congestión en la apertura de la trompa de Eustaquio, favoreciendo la infección posterior por

neumococo (44). Los serotipos que más frecuentemente colonizan e infectan el oído medio son 3, 6, 14, 19, y 23 (45).

La causa más frecuente de sinusitis es *S. pneumoniae*, y suele ocurrir tras obstrucción de las aperturas de los senos paranasales por congestión de las membranas que los recubren debido a infección vírica o proceso alérgico previo (37).

2. Meningitis

S. pneumoniae es el agente etiológico más frecuente de meningitis en niños. Se puede producir como consecuencia de extensión directa desde los senos paranasales u oído medio, o más frecuentemente como resultado de una bacteriemia que alcanza los plexos coroideos. Consecuencia de extensión directa es también la meningitis producida tras traumatismo craneoencefálico, pérdida de líquido cefalorraquídeo, y/o pérdida de la integridad de la duramadre (44).

3. Neumonía neumocócica

S. pneumoniae es la causa más común de neumonía adquirida en la comunidad que requiere hospitalización. En la mayor parte de los casos se presenta con tos productiva y fiebre, mostrando áreas de infiltración que afectan a menos de un segmento pulmonar en la radiografía torácica (44).

La mortalidad por neumonía neumocócica adquirida en la comunidad es de un 5 a un 10% en personas de todas las edades, y del 10 al 30 % en mayores de 65 años. La mayor parte de los casos letales se asocian con bacteremia (44).

Es difícil establecer el diagnóstico bacteriano en niños con neumonía debido a que es frecuente la colonización nasofaríngea de patógenos potenciales, y es más complicada la obtención de muestra de esputo que en adultos. Además las imágenes radiológicas raramente ayudan a establecer el diagnóstico diferencial entre neumonía vírica y bacteriana (37).

4. Enfermedad neumocócica invasora

Se define así cualquier infección en la que se aísla *S. pneumoniae* de la sangre o de otra zona normalmente estéril. Las infecciones neumocócicas invasoras son mucho menos frecuentes que la otitis media o la neumonía.

Las entidades clínicas más frecuentes entre los casos con hemocultivo positivo son bacteremia sin foco de infección aparente, neumonía, y meningitis.

En la mayoría de los estudios, la bacteremia sin foco de infección aparente ocurre en 30 - 40%, neumonía en 17 - 34%, y meningitis en 14 - 34% de los casos. Casi todos los niños con bacteremia sin foco aparente se recuperan si se les trata con antibióticos por vía parenteral tras el diagnóstico. Si no se les trata, puede ocurrir meningitis en 6 a 10% de los casos y la bacteriemia puede persistir en 20 a 30 % de los casos (37).

La mortalidad por bacteremia neumocócica es del 16 al 36% entre todos los adultos y del 28 al 51% en mayores de 65 años. En la infancia, la mortalidad es variable, entre 1,3 y 6,6% (37,44).

Las secuelas de una meningitis neumocócica en la infancia suelen ser frecuentes y graves (retraso mental, espasticidad o paresia, convulsiones, sordera, y otras secuelas neurológicas graves). En una pequeña proporción de niños pueden ocurrir episodios repetidos de infección neumocócica invasora, sin que ello indique la presencia de inmunodeficiencia (37,44).

J. Diagnóstico de laboratorio

1. Condiciones de cultivo

S. pneumoniae es un microorganismo difícil de cultivar (exigente nutricionalmente), presenta un crecimiento difuso en los caldos, y en agar tiene el aspecto de colonias pequeñas, grisáceas y mucoides (acuosas), rodeadas de una zona verde de hemólisis parcial (hemólisis α) en el agar sangre de carnero al 5%. Por lo que requiere medios enriquecidos para su aislamiento primario; tales como agar tripticosa soya o agar infusión cerebro corazón, enriquecidos con 5% de sangre ovina desfibrinada, sangre de caballo o sangre de conejo (5, 42).

Para obtener una recuperación adecuada de *S. pneumoniae* se requiere que los medios utilizados para tal fin contengan aminoácidos, péptidos, purinas, pirimidinas y vitaminas, suplementos que generalmente se encuentran en las bases comerciales que contienen extracto de carne (5, 26,37).

2. Condiciones atmosféricas

S. pneumoniae es anaerobio facultativo; la mayoría de los aislamientos presentan un crecimiento relativamente bueno, pero ocasionalmente se observan colonias pequeñas. Algunos aislamientos son dependientes de CO₂ (5-7%), atmósfera que favorece el crecimiento. Cuando se cultiva en forma aeróbica *S. pneumoniae* acumula gran cantidad de H₂O₂. El rango de temperatura a la cual se debe incubar *S. pneumoniae* es de 30 -36°C (4, 5,27).

3. Coloración de Gram

La coloración de Gram de la colonia permite observar la morfología microscópica característica, la presencia de diplococos lanceolados Gram positivo (5).

4. Susceptibilidad a la optoquina

La optoquina (hidrocloruro de etilhidrocupreína), es un compuesto al cual *S. pneumoniae* es susceptible en bajas concentraciones (5 µg o concentraciones menores) y por lo tanto inhibe su crecimiento. La optoquina puede inhibir el crecimiento de otros *Streptococcus* alfa hemolíticos, pero en concentraciones altas es soluble en agua y se difunde rápidamente en el medio.

Los discos de papel de filtro impregnados con optoquina pueden ser colocados directamente sobre la superficie del agar para la realización de la prueba.

Las células de *S. pneumoniae* alrededor del disco son lisadas debido a cambios de tensión en la superficie, produciéndose una zona o halo de inhibición. Para la prueba el químico es incorporado a discos de papel de 6 mm, en una concentración de 5 µg. El disco es colocado sobre una placa de agar sangre de carnero a 5%, la cual ha sido inoculada a partir de una colonia del aislamiento a investigar. Después de 18-24 horas de incubación a 35°C en ambiente de CO₂ (5-7%), la caja es examinada para observar la inhibición del crecimiento alrededor del disco. Zonas de inhibición mayores o iguales a 14 mm son interpretadas como susceptibles, lo que permite realizar una identificación presuntiva del aislamiento como *S. pneumoniae* (4,5).

5. Solubilidad en bilis

Las sales de bilis específicamente el desoxicolato y el taurocolato de sodio tienen la capacidad de lisar *S. pneumoniae* cuando en solución se adicionan a una suspensión de microorganismos (suspensión realizada a partir de un cultivo fresco de *S. pneumoniae* de 18- 24 horas en agar sangre ovina al 5%).

S. pneumoniae produce enzimas autolíticas que son las responsables de la característica umbilicada de la colonia en cultivos viejos. La adición de la solución de sales de bilis a la suspensión de la bacteria, acelera el proceso de lisis; proceso asociado con la disminución de la tensión superficial entre el medio y la membrana celular bacteriana.

La prueba de solubilidad en bilis se puede realizar a partir de cultivos en caldo o en agar sangre de carnero al 5%. Dado que la solución de desoxicolato de sodio puede precipitarse a pH de 6,5 o menor, cuando se realiza la prueba de solubilidad en bilis a partir de cultivos en caldo, el medio debe alcalinizarse para evitar una reacción falsa negativa (26).

K. Serotipificación

Existen 90 serotipos reconocidos de *Streptococcus pneumoniae*. Los primeros 80 fueron identificados en 1957 y tres más fueron adicionados durante los siguientes 28 años. En 1985, Austrian describió el tipo 16A y Henrichsen en 1995 describió los tipos 10B, 10C, 12B, 25A y 33D (5,41).

Es interesante mencionar la manera como los diferentes serotipos de *S. pneumoniae* han sido denominados o identificados. El primer serotipo fue llamado F, por primero (first), y los siguientes serotipos los identificaron con los sufijos A, B, etc, basados en el orden de identificación del descubrimiento (38).

Si el aislamiento de *S. pneumoniae* es sensible a la optoquina, la identificación puede ser confirmada usando el Omni suero, el cual es una mezcla de sueros polivalentes producido en conejos, este suero es empleado en la reacción capsular o prueba de Neufeld Quellung. El suero es producido por el Statens Seruminstitut de Copenhague, Dinamarca (26,46).

La reacción de Neufeld-Quellung no es una reacción de hinchamiento capsular como comúnmente se asume. Es una reacción de precipitación entre el

suero específico (anticuerpo), que reacciona con el polisacárido capsular (antígeno), haciendo evidente la cápsula cuando se observa al microscopio. Franz Neufeld publicó en 1902 el descubrimiento de este fenómeno llamado reacción de Quellung (hinchazón) (26).

Los títulos de anticuerpos tipo específico presentes en el omni-suero ($>1:4$) pueden no ser lo suficientemente altos para poner en evidencia o hacer visible las cápsulas, pero pueden producir una aglutinación microscópica, la cual puede ser considerada como una reacción positiva. Esta reacción es rara y es solamente informada cuando no ocurre una reacción significativa con uno de los otros sueros tipificadores en un aislamiento sensible a la optoquina y soluble en bilis. El título bajo del omni-suero puede dar como resultado una reacción falsa negativa con cierto aislamientos que son tipificables (5).

Los aislamientos de *S. pneumoniae* son examinados inicialmente con la mezcla de sueros (título $>1:8$), y luego con los tipos o grupos no específicos (título $>1:16$). Las colonias rugosas pueden presentar una auto-aglutinación con diferentes sueros, si esto ocurre la cepa debe considerarse como no tipificable (5).

El antisuero de "tipos" representa una fórmula antigénica simple para cada tipo. El antisuero usado para identificar el "grupo" representa una colección de serotipos cada uno con diferente fórmula antigénica. El antisuero de "grupo" presentará reacción cruzada con todos los tipos dentro del grupo. Para realizar la identificación de factor o sub-tipificación de grupo se requiere hacer tipificaciones usando el antisuero que identifica el factor; y el tipo al cual pertenece el aislamiento se determina por el patrón de reacciones que se observe con el conjunto específico de sueros que determinan el factor. Los antisueros para identificar factores no se encuentran disponibles comercialmente (5) (Anexo 25).

En 1993 fue estandarizada, una técnica simplificada para la serotipificación de *S. pneumoniae*. El sistema usa 12 pooles (mezcla de sueros polivalentes producido en conejos) y un tablero de identificación. Con este sistema se pueden identificar 21 de los serotipos o serogrupos más comúnmente distribuidos en el mundo. Todos esos serotipos forman parte de la vacuna polivalente contra *S. pneumoniae* (vacuna con 23 serotipos) (Anexo 26) (5).

L. El desarrollo de las vacunas neumocóccicas

La historia del desarrollo de las vacunas neumocóccicas dio inicio a principios del siglo XX.

La existencia de cuando menos 90 distintos serotipos de neumococo representó un obstáculo para el desarrollo de una vacuna que proporcionara protección adecuada. Esto se resolvió con la introducción de una vacuna polivalente en el año 1977, gracias a los esfuerzos del Dr. Robert Austrian (32). En ese mismo año se autorizó el uso de una vacuna contra los 14 serotipos más prevalentes de neumococo, la cual proporciona protección contra 80% de cepas invasoras aisladas en Estados Unidos. En 1983 se le agregaron otros nueve serotipos (23 en total), lo cual aumentó la protección contra más de 90% de las cepas aisladas en los países desarrollados (37, 48,49).

La vacuna de polisacáridos 23-valente contra neumococo (23PS) ha estado disponible por más de 20 años para su uso en individuos mayores de dos años de edad.

A través de estudios retrospectivos se ha establecido con certeza su efectividad clínica en la prevención de ENI (enfermedad neumocócica invasora) en adultos mayores (37, 50,51).

También se ha demostrado su costo-efectividad en estudios hechos en Estados Unidos y varios países de Europa Occidental. Si bien los beneficios de la vacuna 23PS son innegables, ésta también tiene ciertas limitaciones (52).

Varios estudios de casos y controles y de prevalencia de serotipos sugieren que la eficacia global de la vacuna 23PS es de 50% a 81% para los serotipos específicos de la vacuna, en adultos con bacteremia (52,53).

Una limitación importante de la vacuna 23PS es que no es inmunogénica o protectora en niños menores de dos años de edad (grupo con la mayor incidencia de enfermedad neumocócica invasora), debido a que genera una respuesta independiente de linfocitos T.

En los ancianos también ocurre una disminución de niveles de anticuerpos contra serotipos importantes de neumococo a niveles previos a la vacunación, en un periodo de 3 a 7 años (49, 55,56).

La necesidad de superar las limitaciones de la vacuna 23PS condujo al desarrollo de las vacunas neumocócicas conjugadas. Estas generan inmunidad en lactantes y niños pequeños, contra infecciones neumocócicas causadas por la presentación de los antígenos capsulares al sistema inmunocompetente, de una manera más inmunogénica.

Este mecanismo de acción permite que los antígenos débiles o no inmunogénicos se activen a través del acoplamiento covalente con una proteína transportadora inmunogénica. El antígeno adquiere así el carácter inmunogénico de dicha proteína, permitiendo su reconocimiento por el sistema inmunológico como *dependiente* de linfocitos T. Las proteínas son degradadas a péptidos; éstos se asocian con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II sobre la superficie celular, para ser presentados a los linfocitos T y estimular la producción de anticuerpos por los linfocitos B. Estos complejos pueden estimular la respuesta de linfocitos T cooperadores, la cual a su vez genera respuestas más intensas cuando hay estímulos repetidos (57,58).

La conjugación se desarrolló con el fin de crear vacunas conjugadas de proteínas de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) y se ha probado con éxito para el control de enfermedad invasora por Hib, particularmente meningitis en lactantes vacunados. Entre 1989 y 1997, el uso de vacunas conjugadas contra Hib redujo en más de 99% la incidencia de enfermedad invasora por Hib en Estados Unidos, en niños menores de cinco años de edad (58,59).

Las cuestiones bioquímicas implicadas en la construcción de vacunas conjugadas neumocócicas óptimas varían de acuerdo al serotipo. Debido a esto, ha sido necesario desarrollar formulaciones específicas para ciertos serotipos, con el fin de maximizar la respuesta inmune y contrarrestar la exposición variable a diferentes polisacáridos neumocócicos (58). Entre otros factores importantes que pueden afectar la inmunogenicidad de las vacunas conjugadas están:

- 1) la selección de una proteína transportadora que evite la supresión de la respuesta inmune mediada por el transportador;
- 2) la frecuencia de inmunización;
- 3) el uso de adyuvantes; y
- 4) la edad e inmunocompetencia del hospedero (58).

Las vacunas con polisacáridos capsulares conjugados a una proteína acarreadora, presentan varias ventajas y entre ellas podemos mencionar el hecho de que se pueden emplear desde el primer mes de vida, logrando un bajo nivel de acarreamiento nasofaríngeo y si pueden prevenir la otitis media (37,51).

Dentro de las vacunas proteínicas contra *S. pneumoniae*, tenemos dos: una que utiliza la pneumolisina y otra que emplea una proteína superficial conocida como PspA (proteína de superficie A) y ambas vacunas se encuentra en fases experimentales (37).

Los serogrupos en la formulación nonavalente (la vacuna heptavalente más los serogrupos 1 y 5) causan de 80% a 90% de ENI (enfermedad neumocócica invasora) en todas las regiones excepto en Asia (66%). El serogrupo 1 se encontró en más de 6% de ENI en cada región, incluyendo Europa, mas no en Estados Unidos, Canadá, y Oceanía (2).

Los serogrupos incluidos en la vacuna heptavalente (4, 6, 9, 14, 18, 19 y 23), causan el 70% a 88% de ENI (enfermedad neumocócica invasora) en niños pequeños en Estados Unidos, Canadá, Oceanía, África y Europa, y más de 65% de ENI en América Latina y Asia.

La vacuna del neumococo reduce en casi un 50% el riesgo de bacteremia por neumococo en pacientes mayores de 65 años, aunque no reduce el riesgo de neumonía extrahospitalaria sin bacteremia. Por otro lado, la vacunación infantil con preparados pentavalentes reduce la tasa de infección tanto en los vacunados como en los adultos que viven con ellos (61).

En el año 2000 se autorizó en Estados Unidos el uso de vacuna pentavalente frente al neumococo para niños. Se considera indicada su administración en los niños menores de 2 años y en los mayores de 2 años con alto riesgo de infección neumocócica (61).

Se demuestra que la tasa de infección fue menor en el año 2001 de lo que era en los años 98 y 99. Esta reducción fue del 69% en los niños menores de 2 años (con una reducción del 78% en la tasa de infecciones por neumococos de los serotipos usados en las vacunas y del 50% cuando se trata de neumococos relacionados con dichos serotipos) (61).

Los datos de un estudio realizado en Washington parecen indicar la utilidad de la vacunación pentavalente en niños, puesto que sirve para reducir la incidencia de la enfermedad, no sólo en los vacunados, sino también en su entorno, lo cual serviría de argumento para indicar la vacunación de forma generalizada (61).

Los serotipos que tienen las diferentes vacunas licenciadas en el ámbito mundial (Pnc-CRM, Pnc-D y Pnc-T) son los siguientes: 1, 3, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (37).

IV. JUSTIFICACION

Streptococcus pneumoniae es responsable de elevada morbilidad y mortalidad de una gran variedad de cuadros clínicos principalmente de infecciones severas como septicemia, meningitis y neumonía.

Las tasas de morbilidad asociadas con *S. pneumoniae* son particularmente elevadas en los niños pequeños menores de 5 años, los ancianos y los pacientes con problemas predisponentes.

Estudios realizados en varios países sobre la distribución de los serotipos prevalentes, han demostrado que la frecuencia varía con el tiempo, el cuadro clínico, la edad y la región geográfica.

Considerando que en el mercado se encuentran diferentes vacunas conjugadas con fórmulas que incluyen diferentes serotipos capsulares, resulta oportuno conocer los serotipos invasivos más comunes en Guatemala y analizar la potencial cobertura que ofrecerán las vacunas antineumococo para evitar enfermedades severas, por lo que es importante la realización de este estudio.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar cuales son los serotipos de *S. pneumoniae* implicados en el desarrollo de infecciones invasivas en niños menores de 5 años que asisten al Hospital Roosevelt diagnosticados con neumonía y meningitis.

B. Específicos

1. Determinar la frecuencia de serotipos de *S. pneumoniae* con respecto al tipo de muestra
2. Determinar la frecuencia de serotipos de *S. pneumoniae* con respecto a la edad.
3. Comparar los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* (SPN (s)) hallados en niños menores de 5 años con los presentes en las vacunas conjugadas disponibles en el mercado.

VI. HIPÓTESIS

Por ser un estudio descriptivo no se formula hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de Trabajo

Niños diagnosticados con neumonía y meningitis que asisten al Hospital Roosevelt.

B. Muestra

Cepas aisladas de *S. pneumoniae*, recolectadas en el Hospital Roosevelt durante 12 meses del año 2006 de niños diagnosticados con neumonía y meningitis.

C. Recursos Humanos e Institucionales

- Gloria del Carmen Salazar Melgar
- Lic. Jorge Raúl Matheu

D. Recursos materiales

1. Equipo

- Refrigeradora
- Incubadora
- Campana Bacteriológica
- Mechero
- Microscopio
- Congelador

2. Reactivos

- Agar sangre de carnero
- Agar Muller-Hinton sangre
- Azul de metileno al 1%
- Aceite de inmersión
- Antisueros para la serotipificación de *S. pneumoniae* (12 pools (mezcla de sueros polivalentes producido en conejos)) P, Q, R, S, T, A, B, C, D, E, F, H) obtenidos de STATENS SERUM INSTITUT Copenhagen, Dinamarca.

3. Instrumentos y otros

- Asas bacteriológicas en argolla
- Cajas de Petri
- Jarra con candela y humedad
- Láminas Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Asas desechables
- Guantes descartables
- Mascarilla
- Bata
- Toallas de papel mayordomo
- Marcadores
- Tape
- Papel parafilm
- Tijeras
- Jabón
- Toallas
- Alcohol 70%
- Cloro

E. Metodología

1. Recolección de las cepas de *S. pneumoniae* en el Hospital Roosevelt en un período de 12 meses del año 2006, obtenidas de niños menores de 5 años diagnosticados con neumonía y meningitis por médicos del mismo Hospital.

2. Procesamiento de las cepas

- Cada cepa se resiembró en agar sangre de carnero al 5%.
- Se incubó a 37°C en jarra con candela durante 24 horas.
- Observar colonias pequeñas, grisáceas y mucoides (acuosas), rodeadas de una zona verde de hemólisis parcial (hemólisis) en el agar sangre de carnero al 5%.
- Identificación con pruebas bioquímicas de Optoquina, solubilidad en bilis y en API STREP
- Realizar el procedimiento de serotipificación.

3. Serotipificación

a. Principio

La reacción de Neufeld-Quellung no es una reacción de hinchamiento capsular como comúnmente se asume. Es una reacción de precipitación entre el suero específico (anticuerpo), que reacciona con el polisacárido capsular (antígeno), haciendo evidente la cápsula cuando se observa al microscopio.

b. Procedimiento para la identificación de serotipos o serogrupos

- Se necesitan láminas portaobjetos para identificar cada colonia o aislamiento.
- Cada lámina debe tener dos extendidos del aislamiento a identificar, un extendido en cada extremo.
- Marcar la lámina con el número del aislamiento en el centro de cada placa con un marcador.
- Con el empleo de un asa desechable tomar de 3 a 5 colonias aisladas de la caja de petri.
- Frotar firmemente contra la lámina porta objetos.
- Realizar dos extendidos, uno a cada extremo de la lámina. *El diámetro del extendido debe ser de aproximadamente 1 cm.*
- Dejar secar los extendidos al aire.
- Con un asa pequeña estéril remover una asada de antisuero del vial.
- Colocarla sobre el extendido en la lámina porta objeto y mezclar bien.
- Colocar una gota de solución acuosa de azul de metileno al 1% en un cubreobjeto.
- Colocarlo sobre el antisuero en la lámina porta objetos.
- Presionar suavemente para permitir que el colorante se extienda.
- Colocar una gota de aceite de inmersión sobre el cubreobjetos.
- Examinar con el objetivo de 100x.
- Los antisueros se utilizan siguiendo el orden estipulado por el tablero de ajedrez. Se empieza por los antisueros P, Q, R, S, T hasta que se obtenga un resultado positivo y luego se toma el grupo de antisueros A, B, C, D, E, F, H para obtener un resultado final. Por ejemplo: Si se obtuvo un resultado positivo con el antisuero P de una cepa de *S. pneumoniae*, se continua tipificando la cepa con los antisueros A, B, C, H (según el tablero de ajedrez) hasta obtener un resultado positivo, si se obtiene un resultado positivo con el antisuero H, el *S. pneumoniae* seria tipo 14 (según el tablero de ajedrez P+ H = 14) y así sucesivamente se trabaja con cada cepa (Anexo 26).

c. Interpretación

Se visualiza la cápsula (Quellung), se observa un hinchamiento de la bacteria y adicionalmente se observa aglutinación de las bacterias; lo cual indica que es positivo a ese serogrupo.

Para la determinación de los tipos de cada cepa se utiliza el sistema del tablero de ajedrez para la serotipificación de *Streptococcus pneumoniae* con el empleo de 12 antisueros polivalentes (Anexo 26).

F. Diseño de la Investigación

1. **Tipo de estudio:** Descriptivo retrospectivo ya que solamente se determinó el serotipo de las cepas de *S. pneumoniae* que se analizaron en este trabajo.

2. **Diseño de muestreo:** Se seleccionaron por conveniencia un total de 95 muestras de casos que cumplieron con los criterios de inclusión:

- Pacientes extrahospitalarios menores de 5 años que asistieron a la consulta externa del Hospital Roosevelt, quienes fueron diagnosticados con neumonía y meningitis en el año 2006.

3. **Variable de interés:**

- Aislamiento de *S. pneumoniae*
- Identificación de serotipos

4. **Análisis de resultados:**

Se realizó estadística descriptiva por medio de tablas para determinar los diferentes serotipos presentes en el estudio, y poder comparar entre las variables serotipos, edad, y origen de la muestra.

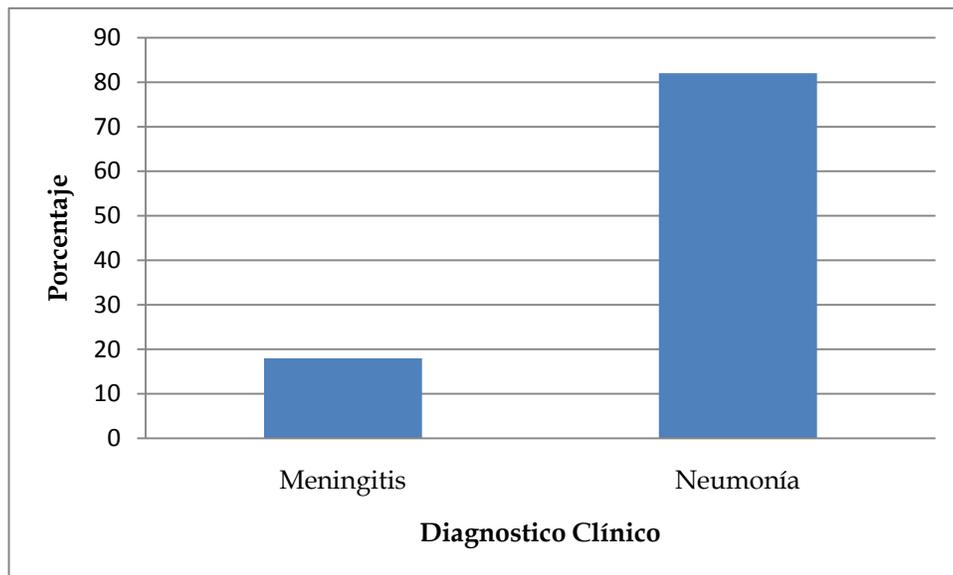
VIII. RESULTADOS

Durante el año 2006 se recolectaron 95 cepas de *Streptococcus pneumoniae* las cuales provenían de pacientes extrahospitalarios menores de 5 años que asistieron a la consulta externa del Hospital Roosevelt, quienes fueron diagnosticados con neumonía ó meningitis durante ese mismo año.

Del número total de cepas recolectadas, fueron analizadas 89 ya que 6 cepas no fueron recuperadas al momento de la resiembra por lo que no fueron evaluadas.

De las 89 cepas tipificadas, el mayor número de cepas de *S. pneumoniae* se obtuvo de niños diagnosticados con neumonía 73 (82.02%) y en menor cantidad con meningitis 16 (17.98%) (Gráfica 1).

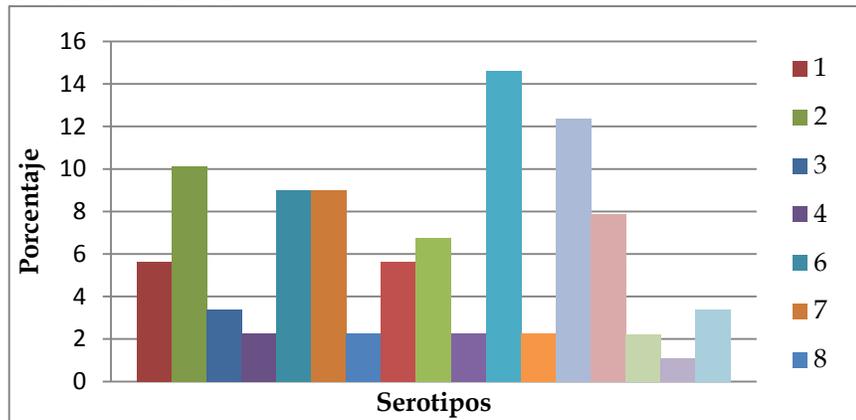
Gráfica 1. Cepas de *S. pneumoniae* aisladas de niños diagnosticados con neumonía ó meningitis en el Hospital Roosevelt durante el año 2006 (n=89)



Fuente: Datos Experimentales

En las cepas tipificadas de *S. pneumoniae* se determino que los serotipos más comunes fueron 14 (14.61%), 18 (12.36%), 2 (10.11%), 6 (8.99%), 7 (8.99%), 19 (7.86%), 10 (6.74%), 9 (5.62%) y 1 (5.62%) (Gráfica 2).

Gráfica 2. Distribución de serotipos de *S. pneumoniae* en muestras procedentes del Hospital Roosevelt durante el año 2006



Fuente: Datos Experimentales

En la tabla 1 se puede observar la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* en niños diagnosticados con neumonía ó meningitis, siendo los mas frecuentes en neumonía el 14 (14.61%), 18 (12.36%), 19 (7.86%), 10 (6.74%), 7 (6.74%), 9 (5.62%), 6 (5.62%) y en meningitis el 2 (6.74%) ,6 (3.37%) y el 1 (3.37%).

Tabla 1. Frecuencia y distribución de serotipos de *S. pneumoniae* en niños diagnosticados con neumonía ó meningitis que asistieron al Hospital Roosevelt durante el año 2006

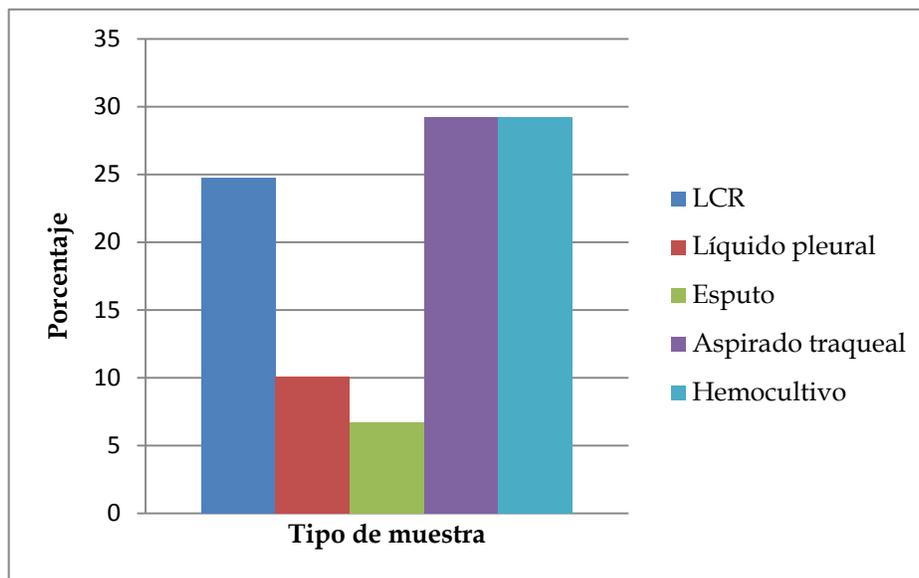
Diagnostico Clínico	Serotipo	No. de cepas	%
Meningitis	1	3	3.37
	2	6	6.74
	4	2	2.25
	6	3	3.37
	7	2	2.25
Neumonía	1	2	2.25
	2	3	3.37
	3	3	3.37
	6	5	5.62
	7	6	6.74
	8	2	2.25
	9	5	5.62
	10	6	6.74
	11	2	2.25
	14	13	14.61
	17	2	2.25
	18	11	12.36
	19	7	7.86
	20	2	2.25
22	1	1.12	
23	3	3.37	
TOTAL		89	100

Experimentales

Fuente:Datos

Las cepas analizadas fueron aisladas de diferentes tipos de muestras como líquido cefalorraquídeo, líquido pleural, esputo, aspirado traqueal, y hemocultivo. Según se muestra en la gráfica 3, la mayor cantidad de cepas de *S. pneumoniae* se aisló de aspirado traqueal 26 (29.21%), hemocultivo 26 (29.21%) y en menor cantidad líquido cefalorraquídeo 22 (24.73%), líquido pleural 9 (10.11%), y esputo 6 (6.74%) (Gráfica 3).

Gráfica 3. Porcentaje de cepas de *S. pneumoniae* aisladas en diferentes tipos de muestra en el Hospital Roosevelt durante el año 2006



Fuente: Datos Experimentales

En la tabla 2 se muestra la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* según el tipo de muestra en niños diagnosticados con neumonía ó meningitis. Los serotipos más comunes de las cepas analizadas muestran que en aspirado traqueal se aislaron los serotipos 14, 18, 6, y 9; en líquido cefalorraquídeo se aislaron los serotipos 2, 6, 1; en hemocultivo se aislaron los serotipos 7, 19, 10 y 9; y en líquido pleural el serotipo 10.

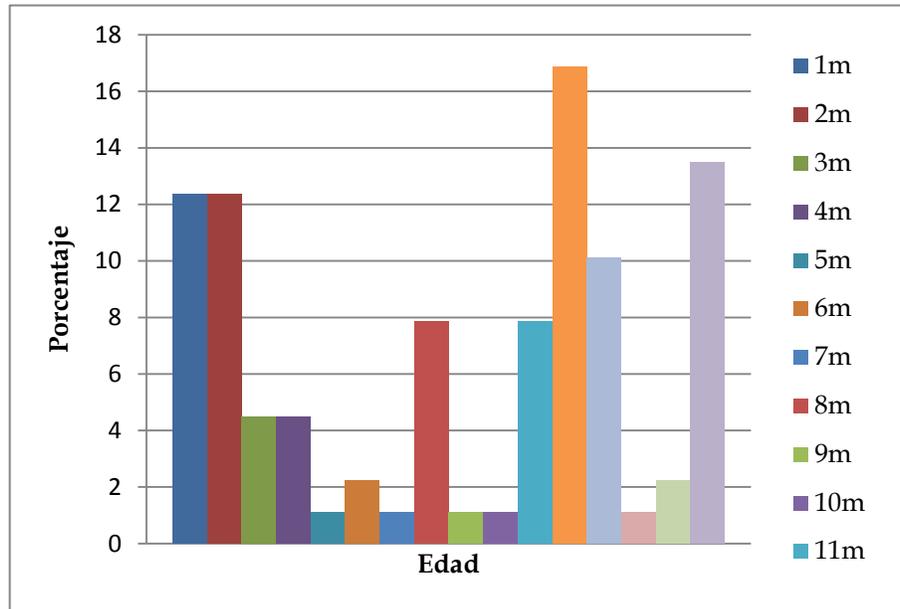
Tabla 2. Distribución de serotipos de *S. pneumoniae* según tipo de muestra en niños diagnosticados con neumonía ó meningitis del Hospital Roosevelt

Serotipo	No. de cepas					Total
	LCR	LP	Espuito	AP	Sangre	
1	3	0	0	1	1	5
2	6	1	0	2	0	9
3	0	1	1	1	0	3
4	2	0	0	0	0	2
6	3	0	0	3	2	8
7	2	2	0	0	4	8
8	0	0	1	1	0	2
9	1	0	0	2	2	5
10	1	2	0	1	2	6
11	0	1	0	0	1	2
14	2	2	1	5	3	13
17	1	0	0	0	1	2
18	0	0	3	6	2	11
19	0	0	0	2	5	7
20	0	0	0	2	0	2
22	0	0	0	0	1	1
23	1	0	0	0	2	3
						89

LP= líquido pleural, AP= aspirado traqueal, LCR= líquido cefalorraquídeo
 Fuente: Datos Experimentales

Los pacientes que asistieron al Hospital Roosevelt y los cuales fueron diagnosticados con neumonía ó meningitis durante ese año fueron niños de diferentes edades con una edad promedio de 6 meses. Según la gráfica 4 se puede observar que el mayor número de cepas analizadas se aislaron en niños con edad de 1 año 15 (16.86%), seguidas por las cepas aisladas en niños de 5 años 12 (13.49%), 1 mes 11 (12.36%), y 2 meses 11 (12.36%) (Ver gráfica 4).

Gráfica 4. Porcentaje de aislamientos de *S. pneumoniae* de acuerdo a edad en niños con neumonía ó meningitis del Hospital Roosevelt



Se determinó que el mayor número de cepas aisladas fueron obtenidas de niños menores de 2 años edad 65 (73.03%), y en menor número niños mayores de 2 años de edad 24 (26.97%) (Tabla 3).

Tabla 3. Cantidad de cepas aisladas de acuerdo a los grupos de edad en niños diagnosticados con neumonía ó meningitis que asistieron al Hospital Roosevelt durante el año 2006

Edad	Número de cepas	%
Grupo menor de 2 años	65	73.03
Grupo mayor de 2 años	24	26.97
Total	89	100

Fuente: Datos Experimentales

En la tabla 4 se puede determinar la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* según la edad de los niños diagnosticados con neumonía ó meningitis. Los serotipos más comunes de las cepas analizadas muestran que el serotipo 14 se encontró con mayor frecuencia en niños con edad de 1 año, el serotipo 18 en niños de 11 meses, el serotipo 2 en niños de 2 meses.

Tabla 4. Distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* de acuerdo a edad

Serotipo	No. de cepas de <i>S. pneumoniae</i> aisladas a partir de diversas muestras clínicas																
	1m	2m	3m	4m	5m	6m	7m	8m	9m	10m	11m	1 año	2 años	3 años	4 años	5 años	Total
1				2	1								2				5
2	2	3		1								1	2				9
3									1			1				1	3
4												1				1	2
6			2					1				1			2	2	8
7		3										2	1			2	8
8								2									2
9		3						2									5
10	1							2				3					6
11		1														1	2
14	1		1	1							3	4	2			1	13
17																2	2
18	3	1	1								4	1				1	11
19	3						1			1			1			1	7
20													1	1			2
22	1																1
23						2						1					3
																	89

Fuente: Datos Experimentales

En la tabla 5 se pueden observar los serogrupos y serotipos de *S. pneumoniae* que se encuentran en las diferentes vacunas y los serogrupos encontrados en las cepas analizadas; presentando una mayor cobertura para los serogrupos del estudio la vacuna heptavalente 71.42%, 10 valente 70%, nonavalente 66.66%, 13 valente 61.53%, y por último la 23 valente 39.13%.

Tabla 5. Serotipos incluidos en las vacunas de *S. pneumoniae* y los serotipos encontrados en el estudio

Vacunas de <i>S. pneumoniae</i>	Serotipos incluidos en las vacunas	Serotipos encontrados en el estudio	No. de serotipos coincidentes	% de Cobertura
Vacuna antineumocócica polisacarida no conjugada 23 valente	1,2,3,4,5,6B,7F,8,9N,9V, 10A, 11A, 12F, 14,15B, 17F,18C,19A, 19F, 20,22F, 23F, 33F	14,18,2,6,7,19,10,9,1	9	39.13
Vacuna nonavalente	4,6,9,14,18,19, 23, 1, 5		6	66.66
Vacuna heptavalente	4,6,9,14,18,19,23		5	71.42
Vacuna 10 valente	4,6,9,14,18,19,7F,5,1		7	70
Vacuna 13 valente	4,6,9,14,18,19,19A,7F,6A,5,3,1		8	61.53

Fuente: Datos Experimentales

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Los estudios de serotipificación tienen gran importancia epidemiológica con el objetivo de determinar la distribución geográfica de los serotipos de *S. pneumoniae*.

Datos epidemiológicos de serotipificación muestran diferencias entre los serotipos de *S. pneumoniae* encontrados en los países desarrollados de aquellos en vías de desarrollo observándose, además, diferencias entre los que predominan en los países latinoamericanos (36).

Estudios realizados en diversos países sobre la distribución de los serotipos prevalentes de *S. pneumoniae*, han demostrado que la frecuencia varía con el paso del tiempo, el cuadro clínico, la edad y la región geográfica (3,5).

La literatura refiere que los serotipos más frecuentes de *S. pneumoniae* (6, 14, 19, 23) son comunes a la mayoría de los continentes, aunque para los países del cono sur de Latinoamérica se describe una alta proporción del serotipo 5 (12 a 17%) en Argentina, Chile y Uruguay, como también de los serotipos 1 y 18 (38). En este estudio se determinó que los serotipos más frecuentes de *S. pneumoniae* fueron el 14 (14.61%), 18 (12.36%), 2 (10.11%), 6 (8.99%), 7 (8.99%), 19 (7.86%), 10 (6.74%), 9 (5.62%) y 1 (5.62%) lo cual se asemeja mucho a lo mencionado anteriormente aunque en la muestra analizada de este estudio los serotipos no encontrados fueron el serotipo 23 y 5 a pesar de ser unos de los más frecuentes en otros países en vías de desarrollo (Gráfica 2).

En las neumonías se recuperaron con mayor frecuencia los serotipos 14 (14.61%), 18 (12.36%), 19 (7.86%), 10 (6.74%), 7 (6.74%), 9 (5.62%), 6 (5.62%) y en meningitis el 2 (6.74%), 6 (3.37%) y el 1 (3.37%) (Tabla 1). El serotipo más frecuentemente hallado en este estudio es el 14, que coincidió con los más frecuentes comunicados por países latinoamericanos y prevaleció en niños afectados con neumonía (36). Este serotipo, con excepción de España y Pakistán, ocupa uno de los primeros lugares en la prevalencia mundial. Contrariamente, el serotipo 1 y fundamentalmente el 5 son excepcionalmente encontrados en Estados Unidos y España, sin embargo en este estudio el serotipo 1 ocupa el último lugar y el serotipo 5 no se encontró (71).

Según la literatura, la confirmación del agente causal mediante el aislamiento de *S. pneumoniae* en la sangre o en el líquido pleural se ve dificultada por la carencia de procedimientos con sensibilidad suficiente para permitir una visión exacta de la realidad. El aislamiento de *S. pneumoniae* en el hemocultivo se logra apenas en el 10% de los casos, y aunque los porcentajes de positividad mejoran cuando se dispone de muestra de derrames pleurales, no siempre alcanzan los obtenidos por punción lumbar (72). A pesar de lo mencionado anteriormente, en este estudio las cepas analizadas fueron aisladas de diferentes tipos de muestras, y el mayor número de aislamientos se obtuvo de muestras de aspirado traqueal y hemocultivo (Gráfica 3). Esto se dio a una baja contaminación en los medios de hemocultivo ya que en la mayoría de hospitales puede haber contaminación de estos, por lo que no permite la visualización y aislamiento de neumococo. Esto es muy común con tasas de contaminación entre el 50 y el 60 % de los hemocultivos, lo cual da la pauta de una mala toma de muestra. Normalmente la contaminación se debe al crecimiento de *Staphylococcus coagulasa negativo* que enmascaran a los neumococos y de allí la baja en el aislamiento de este patógeno, por lo que se sugiere una mejora en la toma de muestra para evitar tasas elevadas de contaminación que den falsos negativos a neumococo (5).

Desde 1993, estudios de vigilancia epidemiológica en países de América latina- coordinado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y llevados a cabo por la Red del Sistema Regional de Vacunas (SIREVA)- han encontrado una alta incidencia de neumonía y meningitis en niños menores de 2 años (2).

El estudio de la prevalencia de los serotipos de *S. pneumoniae* de acuerdo con la edad de los pacientes ha sido ampliamente analizado. Existen datos en donde se demuestran diferencias entre los serotipos encontrados en adultos y niños (74) y en este último caso, entre los que se encuentran presentes en niños menores o mayores de 2 años (48).

La edad media de los niños que participaron en el estudio fue de 6 meses, el 73.03% de los casos incluidos perteneció al grupo menor de 2 años y el 26.97% al grupo mayor de 2 años. Estos grupos son los que concentran las tasas mayores de letalidad por infecciones invasivas como la neumonía y meningitis adquiridas en la comunidad (Tabla 3).

La vacuna polisacárida antineumocócica 23- valente, en uso desde 1,992 no genera respuesta inmunológica en niños menores de 2 años (46), lo que destaca la

importancia del conocimiento epidemiológico de la enfermedad para la evaluación de las nuevas vacunas conjugadas en desarrollo, activas para este grupo etario. La localización pulmonar (neumonía) de la enfermedad representó el mayor porcentaje de los casos en este estudio (82.02%), inclusive en los menores de 2 años (Gráfica 1). En los países en desarrollo como Guatemala, las infecciones respiratorias agudas (IRA), en especial neumonía, son causa reconocida de morbimortalidad en niños menores de 5 años.

La OPS a través de la iniciativa del sistema regional de vacunas (SIREVA), dedicado al desarrollo de vacunas en Latinoamérica, organizó un programa de vigilancia de infecciones invasivas por *S. pneumoniae* en 6 países: Argentina, Brasil, Chile, Colombia, México y Uruguay (75, 76).

Ellos determinaron que prevaleció el serotipo 6 y 14 en niños menores de 2 años mientras que el 5 y el 1 en niños mayores de 2 años. Sin embargo, en el presente estudio se determinó la prevalencia del serotipo 14 en menores de 2 años y del serotipo 6 tanto en menores de 2 años como en mayores de 2 años; mientras que el serotipo 5 no se encontró en las cepas analizadas pero el serotipo 1 si se encontró en los dos grupos de edades (Tabla 4).

Dentro de las vacunas que se encuentran disponibles en el mercado para la prevención del neumococo, se encuentran principalmente la vacuna antineumocócica polisacárida no conjugada 23 - valente, la cual es polivalente formada por los polisacáridos de 23 serotipos distintos de neumococo (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, y 33F) que evoca una respuesta T-independiente. Según los serogrupos más frecuentes encontrados en este estudio, los cuales fueron el 14 (14.61%), 18 (12.36%), 2 (10.11%), 6 (8.99%), 7 (8.99%), 19 (7.86%), 10 (6.74%), 9 (5.62%) y 1 (5.62%), éstos se encuentran incluidos en la vacuna 23-valente. Sin embargo, esta vacuna presenta el inconveniente de ser T-independiente, lo que se traduce en una nula respuesta inmunógena en los niños menores de 2 años, en una producción escasa de anticuerpos y en que no genera memoria inmunológica. Se pudo observar en este estudio que el mayor número de cepas aisladas fueron obtenidas de niños menores de 2 años, por lo que no es recomendable la utilización de la vacuna 23-valente (Tablas 3 y 5) (77,78).

Por otro lado existe también la vacuna nonavalente y los serogrupos incluidos en la formulación de la misma (la vacuna heptavalente (4, 6, 9, 14, 18, 19 y 23) más los serogrupos 1 y 5) causan de 80% a 90% de ENI (enfermedad neumocócica invasora) en todas las regiones excepto en Asia (66%) (2). Según los

serogrupos encontrados de las cepas analizadas y mencionados anteriormente esta vacuna cubre 6 serogrupos de los encontrados en el estudio a excepción del 2, 7 y 10 que también se encontraron en esta muestra estudiada, por lo que tiene una cobertura en nuestro medio de 66.66% (Tabla 5).

Así también una de las más utilizadas la vacuna antineumocócica polisacárida conjugada heptavalente, es polivalente formada por los polisacáridos capsulares de siete serotipos distintos de neumococos (4, 6, 9, 14, 18, 19 y 23), asociados cada uno de ellos a una proteína transportadora que los transforma de T independiente en T dependiente. Los serogrupos incluidos en la vacuna heptavalente causan el 70% a 88% de ENI (enfermedad neumocócica invasora) en niños pequeños en Estados Unidos, Canadá, Oceanía, África y Europa, y más de 65% de ENI (enfermedad neumocócica invasora) en América Latina y Asia; según los resultados obtenidos en las cepas analizadas en este estudio es útil en nuestro medio por los serogrupos que contiene, ya que coinciden 5 serogrupos de los 7 que contiene la heptavalente por lo que presenta una cobertura de 71.42% (Tabla 5) (77,78).

La OPS publicó en el 2007 que estarán disponibles en un futuro próximo 2 vacunas más la 10 valente (vacuna heptavalente mas los serotipos 7F, 5, y 1) y la 13 valente (vacuna heptavalente mas los serotipos 19A, 7F, 6A, 5, 3, y 1) (79). La 10 valente será útil también para nuestro medio al igual que la 13 valente ya que incluyen serogrupos de la heptavalente y otros como el 6, 7, 19, 1 que también fueron encontrados en las cepas analizadas. En este estudio no se subtipificaron las cepas por lo que no se sabe con exactitud que subtipo se encontró del serogrupo 6, 7, y 19 y poder así determinar si estas dos vacunas son adecuadas en nuestro medio ya que la 10 valente incluye el serotipo 7F y la 13 valente los serotipos 6A, 7F, y 19A(79). Se puede observar que la vacuna 10 valente presentará una cobertura del 70% mientras que la 13 valente 61.53 (Tabla 5).

X. CONCLUSIONES

1. Las cepas de *S. pneumoniae* analizadas en este estudio se aislaron en mayor cantidad de niños diagnosticados con neumonía.
2. El serotipo que se encontró con mayor frecuencia fue el 14.
3. El serotipo más frecuente de *S. pneumoniae* en meningitis fue el serotipo 2.
4. La mayor cantidad de cepas de *S. pneumoniae* se aislaron a partir de muestras de aspirados traqueales y hemocultivos.
5. El mayor número de cepas analizadas fueron obtenidas a partir de muestras tomadas de niños menores de 2 años edad.
6. Se determinó que la vacuna que más se adecua a nuestro medio es la vacuna heptavalente, ya que presenta una cobertura de 71.42%.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar más investigaciones en diferentes hospitales del país para conocer la distribución de los diferentes serotipos de *S. pneumoniae* y cuales son los más comunes en nuestro medio.
2. Diseñar e implementar estrategias mediante la vigilancia epidemiológica a nivel nacional que determine los serotipos mas frecuentes en la población guatemalteca para una adecuada vacunación que prevenga la enfermedad neumocócica en nuestro país.
3. Realizar estudios de subtipificación de cepas de *S. pneumoniae*.

XII. REFERENCIAS

1. Facklam R, Breiman R. *Current trends in bacterial respiratory pathogens*. Am. J. Med. 1991; 91: 3S-11S.
2. Echániz-Avilés I, Solórzano-Santos F. Meeting the Challenge: Prevention of Pneumococcal Disease with Conjugate Vaccines. *Salud Publica Mex* 2001; 43:352-367.
3. American Academy of Pediatrics. Pneumococcal infections. In: Pickering L, ed. *Red Book: 2003 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 26th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2003:490-500.
4. Austrian R. Pneumococcus: The first one hundred years. *Rev. Infect. Dis.* 1981, 3: 183.
5. Organización Panamericana de la Salud. Manual para la vigilancia de *S. pneumoiae* y *H. influenzae*. Colombia: Instituto Nacional de Salud, 2004:1-177.
6. Lindberg B, *et al.* Structural studies of the capsular polysaccharide from *streptococcus pneumoniae* type 1. Elsevier Science. 2001; 78: 111-117.
7. Henrichsen J. Structural studies of the capsular polysaccharide from *streptococcus pneumoniae* type 2. Elsevier Science. 2001; 182: 11-117.
8. Heidelberger M, Dudman W, Nimmich W. *J. Immunol.*, 1970; 104: 1321-1328.
9. Jansson P, Lindberg B, Lindquist U. Structural studies of the polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 4. Elsevier Science. 2001; 95:73-80.
10. Jansson P, Lindberg B, Lindquist U. Structural studies of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 5. Elsevier Science. 2001; 140: 101-110.
11. Henrichsen J. The structure of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 7B. Elsevier Science. 2001; 269: 175-181.
12. Kniskern P. Application of high-resolution n.m.r. spectroscopy to the elucidation of the structure of the specific capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 7F. Elsevier Science. 2001; 182: 79-99.
13. Barker S, *et al.* *Carbohydrates. Res.* 1996; 2:224-233.
14. Barker S, Somers P. *The Carbohydrates*. Academic Press.1970; 2: 582.
15. Dennis J. Structural studies of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 12A. Elsevier Science. 2001; 114: 257-266.
16. Kolkman M, *et al.* The Capsule Polysaccharide Synthesis Locus of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 14: Identification of the Glycosyl Transferase Gene *cps14E*. *Journal of bacteriology*. 1996; 178: 3736-3741.
17. Jansson P, Lindberg B, Lindquist U. *Carbohydr. Res.*, 1981;95: 73-80.
18. Jansson P, *et al.* Structural studies of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* types 15B and 15C. Elsevier Science. 2001; 162: 111-116.
19. Perry M, *et al.* The specific capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 15F. Elsevier Science. 2002; 19: 235-246.

20. Jansson P, Lindberg B and Lindquist U. Structural studies of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 17A. Elsevier Science. 2001; 118: 157-171.
21. Karlsson C, et al. Structural elucidation of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 18B. Elsevier Science. 1998; 304: 165-172.
22. Katzenellenbogen E, Jennings H. Structural determination of the capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 19A. Elsevier Science. 2001; 124: 235-245.
23. Jones C. Structure of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 23. Elsevier Science. 2003; 139: 75-83.
24. Karlsson C, Jansson P, Sorensen. The chemical structures of the capsular polysaccharides from *Streptococcus pneumoniae* types 32F and 32A. Eur. J. Biochem. 1998; 255: 296-302.
25. Lemercinier X, Jones C. Full assignment of the H and C spectra and revisión of the O-acerylation site of the capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* Type 33F. Elsevier Science. 2005; 341: 68-74.
26. Gómez-Barreto D, et al. Características clínico-microbiológicas de la meningitis por *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina. Salud Publica Mex. 1999; 41:397-404.
27. Obaro S, Adegbola R, Banya W, Greenwood B. Carriage of pneumococci after pneumococcal vaccination (letter).Lancet 1996; 348: 271.
28. Martins Lúci. Características de las bacterias que causan infecciones respiratorias agudas en los niños: consideraciones actuales para su diagnóstico. Sección II: Aspectos Etiológicos. 2000; 6:107-124.
29. Schweinle J. Pneumococcal intracellular killing is abolished by polysaccharide despite serum complement activity. Infect Immun 1986; 54: 876.
30. Preado J. Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*: BASIC MICROBIOLOGICAL ASPECTS. Rev. chil. infectol. 2001;18:6-9.
31. Novak R, and Tuomanen E. Pathogenesis of pneumococcal pneumonia. Semin Respir Infect. 1999; 3: 209-217.
32. Gomez D, et al. Bases fisiopatológicas para la prevención de las infecciones por *streptococcus pneumoniae*. Bol Med Hosp Infant Mex. 2001; 58 (12):1665-1146.
33. Cockeran R, Anderson R, Feldman C. Pneumolysin as a vaccine and drug target in the prevention and treatment of invasive pneumococcal disease. Arch.Immunol.Ther.Exp.(Warsz.).2005; 53 (3):189-198. _____
34. Abad. Tesis: Respuesta serologica y seguimiento de los pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana vacunados frente a *S. pneumoniae*. Depto. de Medicina. Universidad autonoma de Barcelona. 2001.64p.
35. Quagliarello V, Scheld M. Drug Therapy: Treatment of Bacterial Meningitis. The New England Journal of Medicine. 1997; 336:708-16.

36. Fedson D; Musher D; Eskola J. Pneumococcal Vaccines In: Vaccines 3a ed., Plotkin S. & Orestein W. (eds.). W.B. Saunders Company. 1999;19(5):399-400.
37. Debbag R. Nuevas Vacunas. Vacunas antineumococicas. 2001:98-99.
38. Teele D. *Pneumococcal infections*. In: Feigin RD, Cherry JD, eds. Textbook of pediatric infectious disease. 1992; 1:1223-29.
39. Fedson D. Pneumococcal vaccines. En: Plotkin SA, Mortimer EAJ, ed. *Vaccines*. Philadelphia: WB Saunders, 1988: 271-272.
40. Tuomanen E, Austrian R, Masure H. Pathogenesis of Pneumococcal Infection. The New England Journal of Medicine. 1995;332(19):1280-4.
41. Louisiana State University Medical Center. *Streptococcus pneumoniae*. Bug Bytes 1996; 2:16.
42. Briles D, et al. Pneumococcal Diversity: Considerations for New Vaccine Strategies with Emphasis on Pneumococcal Surface Protein A (PspA). Clinical Microbiology Reviews. 1998; 11(4):645-657.
43. Musher D. *Streptococcus pneumoniae*. Principles and Practice of Infectious Diseases. 1995; 4: 98-99.
44. Fenoll A, et al. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and antibiotic resistance in Spain: update (1990 to1996). Journal of Clinical Microbiology. 1998; 36: 3447-3454.
45. Lalitka MK, et al. Serotyping of *Streptococcus pneumoniae* by agglutination assays: A cost-effective technique for developing countries. Bull World Health Organ. 1996; 74: 387.
46. Robbins J, et al. Considerations for formulating the second-generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on the cross-reactive types within groups. J Infect Dis 1983; 148(6):1136-1159.
47. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of pneumococcal disease: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). 1997;46:1-24.
48. Rossi A, et al. Distribution of capsular types and penicillin-resistance of strains of *Streptococcus pneumoniae* causing systemic infections in Argentinian children under 5 years of age. Microb Drug Resist. 1997; 3(2):135-140.
49. Prevention of Pneumococcal disease: Recomendations of the Advisory Committee on Immunitation Practices (ACIP) MMWR Rep 46(RR-8): 1997; 1-24.
50. Robbins J, Schneerson R. Polysaccharide- protein conjugases: A new generation of vaccines. J Infect Dis. 1990; 161: 821.
51. Sankilampi U, et al. Persistence of antibodies to pneumococcal capsular polysaccharide vaccine in the elderly. J Infect Dis. 1997; 176(4):1100-1104.
52. Sims RV, et al. The clinical effectiveness of pneumococcal vaccine in the elderly. Ann Intern Med 1988; 108(5):653-657.

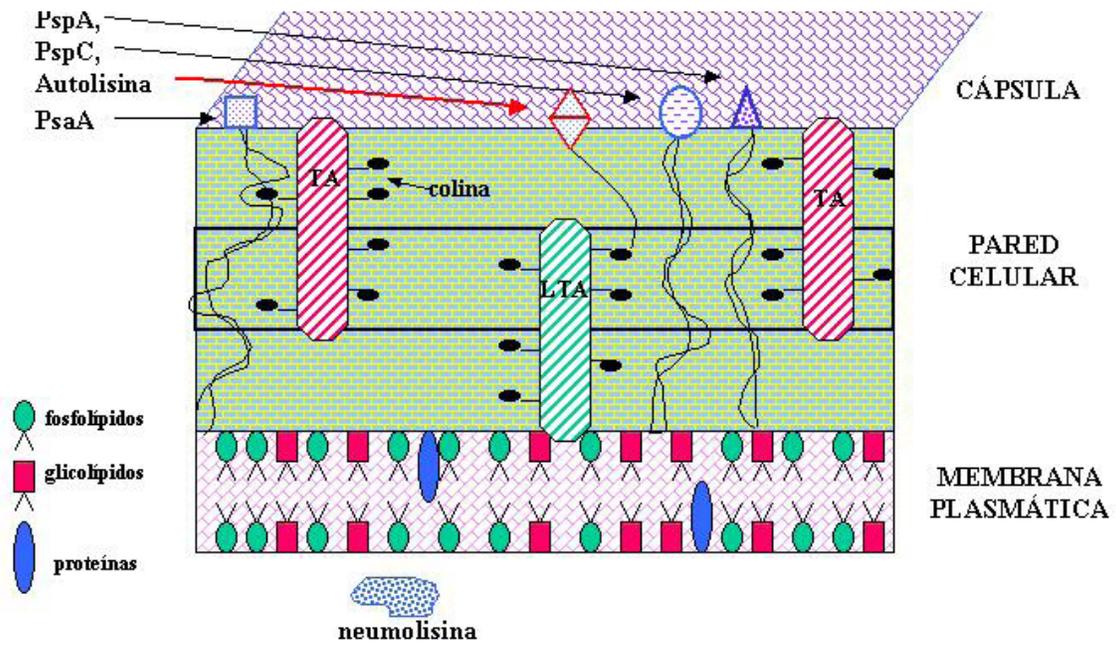
53. Shapiro ED, *et al.* The protective efficacy of polyvalent pneumococcal polysaccharide vaccine. *N Engl J Med.* 1991; 325(21):1453-1460.
54. Black S, Shinefield H. Issues and challenges: Pneumococcal vaccination in pediatrics. *Pediatr Ann.* 1997; 26(6):355-360.
55. Fedson D. The clinical effectiveness of pneumococcal vaccination: A brief review. *Vaccine.* 1999; 17:(1)85-90.
56. Germain R, Hendrix L. MHC class II structure, occupancy and surface expression determined by post-endoplasmic reticulum antigen binding. *Nature.* 1991; 353(6340):134-139.
57. Klein D. Pneumococcal disease and the role of conjugate vaccines. *Microb Drug Resist.* 1999; 5:147-157.
58. Garpenholt O; *et al.* Invasive disease due to *Haemophilus influenzae* type b during the first six years of general vaccination of Swedish children. *Acta Paediatr.* 2000; 89(4):471-474.
59. Shaheen M, *et al.* Immunization coverage among predominantly Hispanic children, aged 2-3 years, in central Los Angeles. *Ann Epidemiol.* 2000; 10(3):160-168.
60. Velasco A. *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors, pathogenesis, and vaccines. *N Eng J Med.* 2003:1737-1746; 1747-1755.
61. Berman S, McIntosh K. *Selective primary health care strategies for control of disease in the developing world.* XXI. Acute respiratory infections. *Rev. Infect. Dis.* 1985; 7: 674-91.
62. Teele D. Pediatric infectious diseases; *Pneumococcal infections.* 4.ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1992. 1813p. (p.1223-29).
63. Klein J, Mortimer E Jr. *Use of pneumococcal vaccine in children.* *Pediatrics.* 1978; 61: 321- 22.
64. Ruvinsky R, *et al.* Infecciones invasivas por *Streptococcus pneumoniae*: Estudio epidemiológico e importancia del desarrollo de un sistema de vigilancia. *Rev. chil. pediatr.* 2004; 75(1):77-79.
65. COMITE CONSULTIVO DE INMUNIZACIONES. Vacuna anti neumocócica conjugada heptavalente. *Rev. chil. Infectol.* 2001; 18 (2):153-155.
66. Hortal M, *et al.* Impact of *Streptococcus pneumoniae* in pneumonias of Latin American children. *Rev Panam Salud Publica.* 2000; 87(3):185-195.
67. Fedson D. Pneumococcal vaccination for older adults: The first 20 years. *Drugs Aging.* 1999; 15(1):21-30.
68. Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 2759-62.
69. *Panorama Actual Med* 2001; 25 (244): 480-49

70. Organización Panamericana de la Salud. Atención integrada a las enfermedades prevalentes de la infancia "Niños sanos": la meta del 2002. Bol Epidemiol. 1999; 20(4): 3-6.
71. Jkolhede C, et al. Clinical trial of vitamin A as adjuvant treatment for lower respiratory tract infections. J Pediatr 1995; 126:807-12.
72. Bromberg K, et al. Rapid diagnosis of pneumonia in children. Semin Respir Infect 1987;2:159-165.
73. Camargos P, et al. Penicillin resistance and serotyping of *Streptococcus pneumoniae* in Latin America. Paediatr Respir Rev 2006; 7: 209-14.
74. Agudelo C, et al. *Streptococcus pneumoniae*: serotype evolution and patterns of antimicrobial susceptibility in invasive isolates from 11 years surveillance (1994 - 2004) in Colombia. Biomedica 2006; 26: 234-49.
75. Tomasz A, et al. Molecular epidemiologic characterization of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* invasive pediatric isolates recovered in six Latin-American countries: An overview. Microb Drug Resist 1998; 4:195-207.
76. Di Fabio J, et al. Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group, 1993 to 1999. Pediatr Infect Dis J 2001; 20 (10):959-67.
77. Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría. La enfermedad neumocócica y su prevención. Vacuna neumocócica conjugada heptavalente. An Esp Pediatr 2002; 56:79-90.
78. Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría. Incidencia de la infección neumocócica invasora en niños menores de dos años. Vacuna neumocócica conjugada heptavalente. Situación en España. An Esp Pediatr 2002; 57:287-89.
79. Oliveira L. Vacunas contra neumococo y rotavirus. Organización Panamericana de la Salud. 2007. 1-27.

XIII. ANEXOS

Anexo 1

Figura No. 1 Estructura de *S. pneumoniae*.



Fuente: PREADO J., VALERIA. Conceptos microbiológicos de *Streptococcus pneumoniae*: BASIC MICROBIOLOGICAL ASPECTS. Rev. chil. infectol. 2001; 18:6-9.

Anexo 2

Tabla 1. **Características estructurales de *Streptococcus pneumoniae***

<i>Membrana Celular</i>	<i>Pared Celular</i>	<i>Cápsula</i>
Lípidos	Peptidoglicano	Polisacáridos capsulares
Ácidos teicoicos	Ácidos lipoteicoicos	Proteína A
	Polisacárido C	Adhesina A
	Proteína M	

Fuente: Bakdash Suzanne; et al. Meningoencefalitis neumocócica aguda. Rev. chil. Infectol. 2003.

Anexo 3

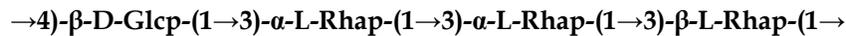
Figura No. 2 **Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 1 (6).**



Fuente: Lindberg B., et al. Structural studies of the capsular polysaccharide from *streptococcus pneumoniae* type 1. Elsevier Science. 2001; 78:111-117.

Anexo 4

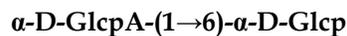
Figura No. 3 **Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 2 (7).**



2

↑

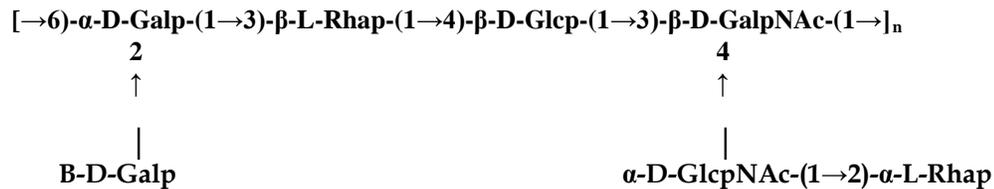
1



Fuente: Henrichsen J. Structural studies of the capsular polysaccharide from *streptococcus pneumoniae* type 2. Elsevier Science. 2001; 182: 11-117.

Anexo 9

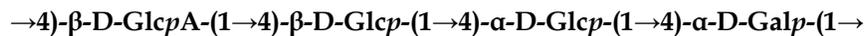
Figura No. 8 Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 7F (12).



Fuente: Kniskern P. Application of high-resolution n.m.r. spectroscopy to the elucidation of the structure of the specific capsular polysaccharide of *streptococcus pneumoniae* type 7F. Elsevier Science. 2001; 182: 79-99.

Anexo 10

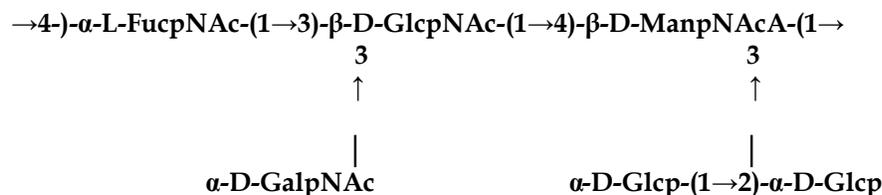
Figura No. 9 Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 8 (13).



Fuente: Barker S; *et al.* Carbohydrates. Res., 2 (1996) 224-233.

Anexo 11

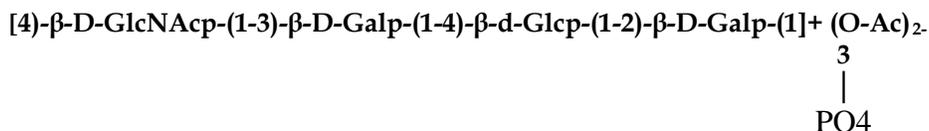
Figura No. 10 Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 12A (15).



Fuente: Dennis J. Structural studies of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 12A. Elsevier Science. 2001; 114: 257-266.

Anexo 14

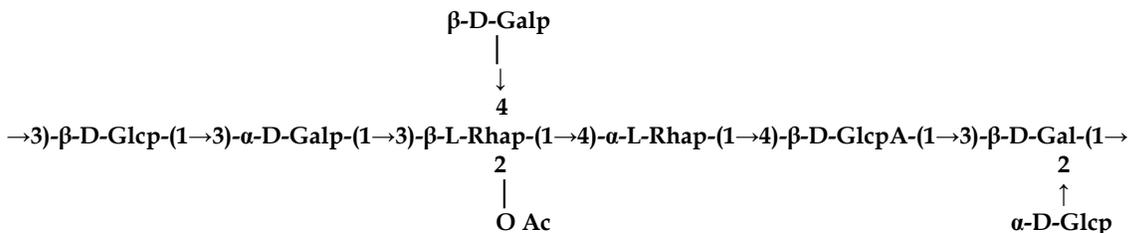
Figura No. 13 Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 15F (19).



Fuente: Perry M., *et al.* The specific capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* type 15F. Elsevier Science. 2002; 19: 235-246.

Anexo 15

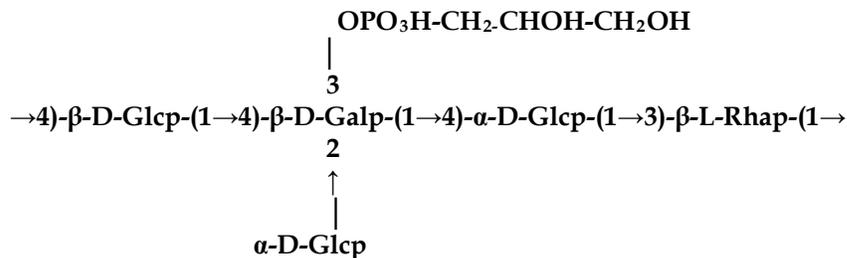
Figura No. 14 Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 17 A (20).



Fuente: Jansson P., Lindberg B. and Lindquist U. Structural studies of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 17A. Elsevier Science. 2001; 118: 157-171.

Anexo 16

Figura No. 15 Estructura del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* Tipo 18B (21).



Fuente: Karlsson C., *et al.* Structural elucidation of the capsular polysaccharide from *Streptococcus pneumoniae* type 18B. Elsevier Science. 1998; 304: 165-172.

Anexo 23

Tabla 4. Factores que afectan la colonización por *Streptococcus pneumoniae*

Factores	Efectos
Menores de 2 años de edad	Se asocia con mayor tasa de portación <i>S. pneumoniae</i> y prevalencia de cepas resistentes.
Guardería	Aumenta la portación como también la prevalencia de cepas resistentes de <i>S. pneumoniae</i> .
Estacionalidad	Aumenta la portación en invierno.
Fumadores pasivos	Aumenta la portación.
Hacinamiento	Aumenta la portación.
OMA	Es precedida por alta tasa de colonización.
Uso de antibióticos	Aumenta la portación y prevalencia de la resistencia.

Fuente: Gómez-Barreto D; *et al.* Características clínico-microbiológicas de la meningitis por *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina. *Salud Publica Mex.* 1999; 41:397-404.

Anexo 24

Tabla 5. Factores de riesgo asociados a infección por *Streptococcus pneumoniae*

-Capacidad invasiva de cada serotipo.	-Deficiencia de complemento.
-Inmunidad humoral triposespecífica.	-Asplenia funcional congénita o adquirida.
-Infección viral previa.	-Síndrome nefrótico
-Edad menor de dos años.	-Síndrome ascílico
-Inmunodeficiencia adquirida o congénita.	- Neoplasias

Fuente: Gómez-Barreto D; *et al.* Características clínico-microbiológicas de la meningitis por *Streptococcus pneumoniae* resistente a la penicilina. *Salud Publica Mex.* 1999; 41:397-404.

Anexo 25

Tabla 6. Factores de los sueros requeridos para subtipificar las cepas que pertenecen a los grupos y patrón de reactividad esperado

Tipo	Fórmula Antigénica	Factor de suero			
6A	6a,6b	6b	6c		
6B	6a,6c	+	-		
7F	7a, 7b	7b	7c	7e	7f
7A	7a, 7b, 7c	+	-	-	-
7B	7a, 7d, 7e, 7h	+	+	-	-
7C	7a, 7d, 7f, 7g, 7h	-	-	+	-
9A	9a, 9c, 9d	9b	9d	9e	9g
9L	9a, 9b, 9c, 9f	-	+	-	-
9N	9a, 9b, 9e	+	-	-	-
9V	9a, 9c, 9d, 9g	+	-	+	-
10F	10a, 10b	10b	10d	10f	
10A	10a, 10c, 10d	-	+	-	
10B	10a, 10b 10c, 10d, 10e	+	+	-	
10C	10a, 10b, 10c, 10f	+	-	+	
11F	11a, 11b, 11e, 11g	11b	11c	11f	11g
11A	11a,11c,11d,11e	+	-	-	+
11B	11a,11b, 11f,11g	-	+	-	-
11C	11a, 11b, 11c, 11d, 11f	+	-	+	+
11D	11a, 11b, 11c, 11e	+	+	+	-
12F	12a, 12b, 12d	12b	12c	12e	
12A	12a, 12c, 12d	+	-	-	
12B	12a, 12b, 12c, 12e	-	+	-	
15F	15a, 15b, 15c, 15f	+	+	-	-
15A	15a, 15c, 15d, 15g	-	+	-	-
15B	15a, 15b, 15d, 15e, 15h	+	-	+	+
15C	15a, 15d, 15e	-	-	+	-

Tipo	Fórmula Antigénica	Factor de Suero
16F	16a, 16b	16b 16c + -
16A	16a, 16c	- +
17F	17a, 17b	17b 17c + -
17A	17a, 17c	- +
18F	18a, 18b, 18c, 18f	18c 18d 18e 18f + - + +
18A	18a, 18b, 18d	- + - -
18B	18a, 18b, 18e, 18g	- - + -
18C	18a, 18b, 18c, 18e	+ - + -
19F	19a, 19b, 19d	19b 19c 19h 19f + - - -
19A	19a, 19c, 19d	- + - -
19B	19a, 19c, 19e,	- + + -
19C	19a, 19c, 19f	- - + +
22F	22a, 22b	22b 22c + -
22A	22a, 22c	- +
23F	23a, 23b, 18b	23b 23c + -
23A	23a, 23c, 15a	- +
23B	23a, 23b, 23d	
24F	24a, 24b, 24d	24c 24d 24e - + -
24A	24a, 24c, 24d	+ + -
24B	24a, 24b, 24e	- - +
25F	25a, 25b	25b 25c + -
25A	25a, 25c	- +
28F	28a, 28b, 16b, 23d	28b 28c + -
28A	28a, 28c, 23d	- +
32F	32a, 27b	32a 32b + -
32A	32a, 32b, 23d	+ +
33F	33a, 33b, 33d	33b 33e 33f + + -
33A	33a, 33b, 33d, 20b	+ + -

33B 33C	33a, 33c, 33d, 33f 33a, 33c, 33e	- - + - - -
Tipo	Fórmula Antigénica	Factor de Suero
35F 35A 35B 35C	35a, 35b 35a, 35c 35a, 35c	35a 35b 35c + + - + - + + - + + - +
41F 41A	41a, 41b 41a	41a 41b + + + -
47F 47A	47a, 35a, 35b 47a, 43b	47a 43b + - + +

Fuente: Organización Panamericana de la Salud. Manual para la vigilancia de *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. Colombia: Instituto Nacional de Salud, 2004. 1-177pp.

Anexo 26

Tabla 7. Sistema del tablero de ajedrez para la serotipificación de *Streptococcus pneumoniae* con el empleo de 12 antisueros polivalentes

	Polivalentes					Tipos/Grupos no relacionados con la vacuna de 23 serotipos							
	P	Q	R	S	T								
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*					
H	14	23*		15									
G^a						29	34	35*	42	47			
I^a						25	38	43	44	45	46	48	

* Grupos (son grupos que tienen sub-tipificación).

^a Los polivalentes G e I no reaccionan con los tipos incluidos en la vacuna de 23 serogrupos, por lo tanto no están incluidos en el nuevo sistema del tablero de ajedrez. Fuente: Organización Panamericana de la Salud. Manual para la vigilancia de *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. Colombia: Instituto Nacional de Salud, 2004. 1-177pp.