

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES**  
**RESPIRATORIAS**

**ISMAEL COSÍO VILLEGAS**

**TESIS:** DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS, CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y  
DESENLACES EN PACIENTES CON NEUMONÍA Y ENFERMEDAD INVASIVA  
POR STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE EN POBLACIÓN MEXICANA  
ATENDIDOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES  
RESPIRATORIAS DURANTE EL CICLO 2018-2020

Para obtener el grado de Especialista en: **Neumología**

**PRESENTA:**

**Dr. Luis Alberto Lezama Sarmiento**

**TUTOR Y ASESOR:**

**Dr. Eduardo Becerril Vargas**

**Médico Internista e Infectólogo**

**CIUDAD DE MEXICO AGOSTO 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

**SECRETARIA DE SALUD  
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA  
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS  
ISMAEL COSÍO VILLEGAS  
NEUMOLOGÍA**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

---

**DR. JUAN CARLOS VÁZQUEZ GARCÍA  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**

---

**DRA. MARGARITA FERNÁNDEZ VEGA  
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA**

---

**DRA. MARIA DEL CARMEN CANO SALAS  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO**

---

**DR. EDUARDO BECERRIL VARGAS  
ASESOR Y TUTOR DE TESIS**

## TABLA DE CONTENIDO

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUCCIÓN</b>               | <b>4</b>  |
| <b>1. MICROBIOLOGÍA</b>           | <b>4</b>  |
| <b>2. TRANSMISIÓN</b>             | <b>10</b> |
| <b>3. PRESENTACIÓN CLÍNICA</b>    | <b>13</b> |
| <b>4. VACUNACIÓN</b>              | <b>14</b> |
| <b>5. EPIDEMIOLOGÍA</b>           | <b>17</b> |
| <b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> | <b>20</b> |
| <b>JUSTIFICACIÓN</b>              | <b>20</b> |
| <b>PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b>  | <b>21</b> |
| <b>HIPÓTESIS</b>                  | <b>21</b> |
| <b>OBJETIVO GENERAL</b>           | <b>21</b> |
| <b>OBJETIVOS SECUNDARIOS</b>      | <b>21</b> |
| <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>       | <b>22</b> |
| <b>RESULTADOS</b>                 | <b>24</b> |
| <b>DISCUSIÓN</b>                  | <b>27</b> |
| <b>CONCLUSIÓN</b>                 | <b>28</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b>               | <b>29</b> |

## INTRODUCCIÓN

*Streptococcus pneumoniae* es una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, se encuentra entre los patógenos aislados con mayor frecuencia en una variedad de infecciones, como meningitis bacteriana e infecciones no invasivas, como neumonía adquirida en la comunidad y otitis media, en niños y adulto mayores. En este último grupo, la neumonía bacteriémica está asociada a una tasa de letalidad de un 10 a 20% y, en el caso de la bacteriemia neumocócica, hasta un 60%.

### 1. Microbiología

El *S. pneumoniae* es una bacteria grampositiva diplococa, tiene una forma lanceolada, miden 0,5 a 1,2  $\mu$ m de diámetro. Son anaerobias facultativas. Para su crecimiento y multiplicación tiene requerimientos específicos, como aportes de proteínas y suplementos hematológicos.

Los medios artificiales que aportan los nutrientes necesarios para el crecimiento de *S. pneumoniae* son medios enriquecidos como agar soya tripticasa o agar chocolate. Carece de la enzima catalasa, la cual debe ser aportada en forma exógena; en la práctica es proporcionada por la sangre. El crecimiento y desarrollo bacteriano se ve facilitado en un ambiente con 8 a 10% de CO<sub>2</sub>. En los medios de cultivo antes señalados este patógeno crece formando colonias redondas, mucosas y no pigmentadas, de 1 a 3 mm de diámetro, las cuales al cabo de 48 horas presentan un aspecto umbilicado, con una depresión central producida por una autólisis celular progresiva. En estos medios con sangre las colonias producen una  $\alpha$  hemólisis, es decir digestión parcial de la hemoglobina y la colonia se rodea de un halo verdoso.

*S. pneumoniae* es sensible a la optoquina y en presencia de bilis o sales biliares se produce una destrucción o lisis bacteriana; estas características fenotípicas son la base para la identificación de especie. La susceptibilidad a optoquina se debe determinar sembrando un inóculo denso en placa de agar sangre de cordero y

colocando en la superficie un disco impregnado con 5 µg de optoquina; si después de 18 horas de incubación de la cepa a 37°C se observa un halo de inhibición del crecimiento (dependiendo del disco comercial) > a 14 mm si es BBL o >16 mm si es Oxoid, y además se solubiliza en presencia de sales biliares a una concentración de 10%, esta cepa se define como *S. pneumoniae*.<sup>1</sup>

La superficie neumocócica está cubierta por una cápsula de polisacárido que recubre la pared celular compuesta de peptidoglucano y ácido teicoico. Aunque el peptidoglucano tiene la estructura Grampositiva clásica de N-acetilglucosamina, ácido N-acetilmurámico y un péptido madre que contiene lisina, el ácido teicoico es inusual en contener una cadena principal de fosfato de ribitol y fosforilcolina unida covalentemente (PCho)(Figura 1). Un requerimiento nutricional de colina es exclusivo de *S. pneumoniae*. PCho sirve como estación de acoplamiento para la unión no covalente de muchas proteínas neumocócicas a la superficie bacteriana. La composición de la superficie de la bacteria varía entre dos estados distintos: tipos de colonias transparentes y opacas). El mecanismo preciso de esta variación de fase no está claro, pero su impacto es ayudar a evadir las defensas del huésped, como la proteína C reactiva (PCR), que se dirige a la PCho y los leucocitos en la sangre al tiempo que promueve la unión a las células del huésped en la nasofaringe. El fenotipo transparente domina en la nasofaringe y expresa menos cápsula y menos de la proteína de unión a colina PspA, pero más de las proteínas de unión a colina CbpA y autolisina LytA. En contraste, la fase opaca predomina en la sangre y se caracteriza por un aumento de polisacárido capsular y PspA y menos CbpA. Las bacterias opacas también producen una mayor biopelícula y son más invasivas para los pulmones y el cerebro.<sup>2</sup>

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 a los *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, lo que da como resultado una hinchazón de la cápsula, fenómeno conocido como “*quellung*”, término que en alemán significa hinchazón.

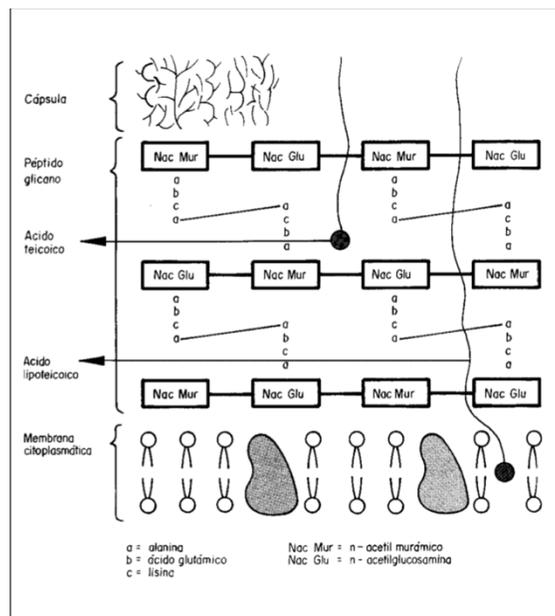
La complejidad antigénica capsular de *S. pneumoniae* explica en parte la elevada incidencia y severidad de las infecciones por este agente. La inmunidad es serotipo específica, lo que significa que teóricamente un sujeto puede tener cerca de 90 infecciones neumocócicas durante su vida. Esto podría ser verdad si la virulencia de cada serotipo fuera similar y la inmunidad fuera de larga duración y homogénea para todos los serotipos, pero en la realidad la calidad y duración de la inmunidad depende del serotipo, de la edad del paciente y de otros parámetros aún no bien definidos.

La regulación genética de esta cápsula es también compleja y es así que algunas cepas pueden experimentar una transformación o cambio de serotipo. Este fenómeno publicado por Coffey en 1991, no había sido detectado previamente y, si bien su frecuencia es baja, se presenta en cepas con resistencia a los antimicrobianos y asociadas a colonización e infecciones en niños. Estos cambios de serotipo en una cepa ocurren por mecanismo de recombinación genética en que se modifica y reemplaza el locus (parte del genoma) que codifica para la expresión de la cápsula. Uno de estos ejemplos es el serotipo 19F que surgió como variante de un clon serotipo 23F multiresistente detectado en España y el cual se ha diseminado a diferentes países.<sup>1</sup>

Las proteínas neumocócicas expuestas en la superficie están marcadas por uno de tres motivos de secuencia: el anclaje de la pared celular LPxTG, un dominio de unión a colina o un dominio de lipoproteína. El puente LPxTG ancla covalentemente una clase de más de una docena de enzimas degradantes y proteínas pilus a la pared celular. La familia de la proteína de unión a la colina (Cbp) es exclusiva de *S. pneumoniae* y los 12 miembros comparten un dominio de unión a la línea de 20 aminoácidos repetido 3 - 9 veces en el terminal carboxilo. Las proteínas clave pertenecen a esta clase. La autolisina LytA hidroliza peptidoglucano y es crítica para

la división celular. La proteína de superficie neumocócica A (PspA) inhibe el depósito y la activación del complemento, se une a la lactoferrina e interfiere con la absorción en los fagocitos. A, D, E y G de Cbp juegan un papel de adherencia. CbpA es una adhesina que presenta un motivo específico para unirse al receptor polimérico de inmunoglobulina en la mucosa nasofaríngea y un segundo motivo para unirse al receptor de laminina en la barrera hematoencefálica. Ambas interacciones permiten la translocación bacteriana a través de sus respectivas barreras. CbpA también se une al complemento C3 y al factor H.

Los pili son estructuras de superficie filamentosas multiméricas compuestas de proteínas de subunidades. Dos islotes de patogenicidad que codifican pili, PI-1 y PI-2, están involucrados en la adhesión. Se ha demostrado que PI-1, codificado por la región accesoria *rhlA*, influye en la colonización, la virulencia y la respuesta inflamatoria en modelos de desafío con ratones. Este pilus está compuesto por tres proteínas estructurales unidas covalentemente en las cuales RrgB es la proteína principal del tallo, y RrgC y RrgA son proteínas auxiliares que decoran el eje y la punta del pilus. RrgA es la adhesión principal.<sup>2</sup>



**Figura 1.** Estructura de la pared celular de *S. pneumoniae*.

## 1.1 Factores de virulencia

Los principales factores de virulencia de las proteínas del neumococo, todos los cuales son inmunogénicos, se han agrupado en dos categorías (en algunos casos ambas):

- \* Adhesinas de superficie y enzimas que promueven la unión y la invasión de células epiteliales respiratorias y otros tipos de células huésped
- \* Aquellos que suprimen las defensas del huésped.

Las adhesinas neumocócicas median la unión del neumococo a las células huésped y a los componentes de la matriz extracelular, así como al ADN microbiano, procesos que requieren una reducción del tamaño capsular.

Las principales adhesinas proteicas que promueven la unión del neumococo a las células epiteliales respiratorias son:

### **Superficie neumocócica adhesina A (PsaA)**

Es un antígeno de lipoproteína común del neumococo que promueve la unión del patógeno a las células epiteliales nasofaríngeas a través de la interacción con E-cadherina, la adhesión celular transmembrana dependiente de  $Ca^{2+}$ . Esta proteína de superficie se considera un antígeno candidato a vacuna prometedor.

### **Proteína C de superficie neumocócica (PspC)**

Esta proteína de unión a la ovulina del neumococo, también conocida como CbpA y SpsA, es una adhesina importante, que media la unión del patógeno al ectodominio del receptor de Ig polimérico expresado en las células epiteliales respiratorias humanas, lo que resulta en colonización y epitelio.

### **Proteína de unión a colina E (CbpE)**

Se ha informado que CbpE, a través de su interacción con plasminógeno / plasmina, promueve la migración del neumococo a través de la matriz extracelular, favoreciendo nuevamente la diseminación del patógeno. El plasminógeno también se encuentra en la superficie de varios tipos de células huésped, incluyendo células epiteliales y endoteliales.

### **Proteínas de la tríada de polihistidina (Pht)**

Este es el término colectivo para una familia de proteínas neumocócicas conservadas expresadas en superficie caracterizadas por un motivo de tríada de

histidina. PhtA, PhtB, PhtD y PhtE. Dos de estos, PhtD y PhtE, son adhesinas que promueven la unión del neumococo a las células epiteliales de las vías respiratorias a través de interacciones que aún no se han establecido.

#### **Proteína repetida rica en serina neumocócica (Psrp)**

La psrp es una adhesina neumocócica específica de pulmón que promueve la unión a la proteína del filamento intermediario, KR10, expresada en la superficie del pulmón, pero no en las células nasofaríngeas. La detección del gen psrP se detectó en 49.3% de cepas aisladas de niños con neumonía neumocócica <2 años de edad y en el 65,4% de los niños mayores, lo que indica el potencial de Psrp como componente de una vacuna multivalente, en lugar de monovalente, basada en proteínas.

#### **Actividad proinvasiva de la neumolisina (Ply)**

Aunque aparentemente carece de propiedades proadhesivas, la toxina formadora de poros neumocócica, Ply, es un potente factor de virulencia proinvasiva del neumococo. La toxina, que se libera predominantemente después de la hidrólisis de la pared celular del neumococo mediada por la acción de la autolisina, LytA, un miembro de la familia de las proteínas que se unen a la colina, también se ha descrito un mecanismo de exportación de capas, lo que puede explicar la presencia de la toxina en la pared celular del neumococo. Las acciones citolíticas formadoras de poros de Ply favorecen la invasión y la ruptura de las barreras epiteliales y endoteliales, promoviendo la diseminación del neumococo.<sup>3</sup> En la siguiente tabla se enumeran algunos factores de virulencia y su función en la patogénesis (tabla 1).

Table 1 | Major pneumococcal virulence factors

| Virulence factor  | Description   | Function in pathogenesis  |
|---|---|---|
| CPS   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Major surface antigen</li> <li>98 structurally distinct serotypes</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Prevents entrapment by mucus during colonization</li> <li>Inhibits opsonophagocytosis by preventing the interaction of iC3b and the Fc fragment of IgG bound to deeper bacterial surface structures with receptors on phagocytic cells</li> </ul>                                  |
| ChoP on teichoic acid                                       | PAFR ligand   | Binds PAFR on surface of epithelial and endothelial cells, facilitating adherence and invasion  |
| Lipopeptides, lipoteichoic acid and peptidoglycan fragments | Pathogen-associated molecular patterns  | Promote inflammation  |
| Ply   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pore-forming toxin</li> <li>TLR4 ligand</li> </ul>                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>Cytotoxic and pro-apoptotic for a wide variety of host cells</li> <li>Activates classical complement pathway and depletes serum opsonic activity</li> <li>Highly pro-inflammatory at sub-lytic levels</li> <li>Activates TLR4, NLRP3 inflammasome and p38-MAPK pathways</li> </ul> |
| PspA  | CBP   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Limits C3 deposition on pneumococcal surface</li> <li>Protects against bactericidal effects of free lactoferrin</li> </ul>   |
| CbpA (also known as PspC)                                   | CBP   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Binds C3 and factor H and limits C3b deposition on pneumococcal surface</li> <li>Binds PIGR and laminin receptor through separate domains</li> <li>Facilitates adherence and invasion of respiratory epithelium and blood-brain barrier</li> </ul>                                 |
| LytA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>CBP</li> <li>Autolysin</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Digests cell wall</li> <li>Releases Ply and pro-inflammatory cell wall fragments</li> <li>Mediates capsule shedding during cellular invasion</li> </ul>  |
| CbpD  | <ul style="list-style-type: none"> <li>CBP</li> <li>Murein hydrolase</li> </ul>                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Mediates fratricide and release of extracellular DNA</li> <li>Promotes biofilm formation</li> </ul>  |
| CbpE (also known as Pce)                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>CBP</li> <li>Phosphorylcholine esterase</li> </ul>                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>Decreases neutrophil activity by inactivation of host PAF</li> <li>Binds plasminogen</li> </ul>  |
| CbpG  | CBP serine protease   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Cell-attached form promotes adherence</li> <li>Extracellular form degrades fibronectin</li> <li>Important for mucosal and invasive disease</li> </ul>  |
| CbpL  | CBP   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Binds collagen, elastin and C-reactive protein</li> <li>Promotes dissemination from nasopharynx to lungs and blood by inhibiting phagocytosis</li> </ul>   |
| NanA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Neuraminidase A</li> <li>LPXTG</li> </ul>                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Cleaves terminal sialic acid from host mucin and cell surface glycoconjugates</li> <li>Unmasks receptors for adhesins</li> <li>Important role in otitis media</li> <li>Triggers TGF-<math>\beta</math> signalling to facilitate endothelial invasion</li> </ul>                    |
| BgaA  | <ul style="list-style-type: none"> <li><math>\beta</math>-Galactosidase</li> <li>LPXTG</li> </ul>                   | Sequentially cleaves sugars from host glycoconjugates   |
| StrH  | <ul style="list-style-type: none"> <li><math>\beta</math>-N-acetylglucosaminidase</li> <li>LPXTG</li> </ul>         | Sequentially cleaves sugars from host glycoconjugates   |
| EndoD   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Endo-N-acetylglucosaminidase</li> <li>LPXTG</li> </ul>                       | Sequentially cleaves sugars from host glycoconjugates   |
| Hyl   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Hyaluronate lyase</li> <li>LPXTG</li> </ul>                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Degrades extracellular matrix</li> <li>Facilitates tissue penetration</li> </ul>   |
| PrtA  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Cell wall-associated serine protease</li> <li>LPXTG</li> </ul>               | <ul style="list-style-type: none"> <li>Cleaves lactoferrin</li> <li>Possible adhesin</li> </ul>   |
| ZmpA (also known as IgA1 protease)                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>Zinc metalloprotease</li> <li>LPXTG</li> </ul>                               | Cleaves human IgA1  |
| ZmpB  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Zinc metalloprotease</li> <li>LPXTG</li> </ul>                               | Possible adhesin  |

## 2. Transmisión

Hasta hace poco, todo lo que se sabía sobre el contagio por esta bacteria, era que la propagación requiere un contacto cercano con un portador y / o portadores (especialmente niños pequeños), es más frecuente durante los meses más secos y fríos, cuando las secreciones de las vías respiratorias son más abundantes y es más probable que ocurra en junto con infecciones virales.

La extensión de la transmisión en el aire versus la transmisión dependiente del contacto no está clara. Varios estudios recientes han examinado factores que afectan la supervivencia de *S. pneumoniae* fuera del huésped. La transmisión a través de las secreciones de los portadores podría implicar el contacto directo de persona a persona o la propagación de bacterias en superficies contaminadas. *S. pneumoniae* también se puede cultivar fácilmente a partir de objetos comunes,

como los juguetes blandos recientemente manipulados por niños colonizados. Bajo condiciones ambientales, suficientes nutrientes, como en la saliva humana ex vivo, los neumococos pueden sobrevivir durante días 21. En condiciones pobres en nutrientes, como en el fluido de la superficie de las vías respiratorias, la expresión bacteriana de Ply aumenta la supervivencia en vivo. Este efecto puede explicarse por la inflamación dependiente de toxinas y, en consecuencia, el aumento de los niveles de nutrientes en las secreciones. La expresión de la cápsula del locus cps aumenta la supervivencia en condiciones ambientales pobres en nutrientes, quizás al proporcionar una reserva de glicanos. Además, los neumococos sobreviven a la desecación durante muchos días, y las bacterias biofilm conservan la viabilidad in vitro mejor que las bacterias planctónicas.

El transporte nasofaríngeo es la fuente de propagación de *S. pneumoniae* entre los huéspedes y el primer paso hacia la enfermedad invasiva. Se requieren varios factores bacterianos para que *S. pneumoniae* colonice y persista en la superficie de la mucosa con una densidad y duración suficientes para que se produzca la transmisión. Por ejemplo, *S. pneumoniae* expresa dos enzimas, peptidoglucano-N-acetilglucosamina desacetilasa (PgdA) y atenuador de resistencia a los medicamentos (Adr), que modifican su peptidoglucano y lo hacen resistente a los efectos líticos de la lisozima, que es abundante en la superficie mucosa de la URT33. Las características principales que facilitan la colonización son la adhesión a las células y tejidos del huésped, la subversión de la inmunidad innata y adaptativa de la mucosa y la evasión del aclaramiento por flujo mucociliar.

El éxito de *S. pneumoniae* como colonizador requiere interacciones con la microbiota nasofaríngea, que probablemente sean extensas y complejas. Estas interacciones pueden ser cooperativas o competitivas. Durante la colonización humana experimental, una mayor diversidad de la microbiota se asocia con una mayor adquisición de *S. pneumoniae* después del desafío intranasal. También se encontró que la colonización por *S. pneumoniae* promueve la heterogeneidad microbiana en estos estudios. Del mismo modo, durante los primeros 2 años de vida, la colonización por *S. pneumoniae* se asoció con perfiles de microbioma menos estables. Los neumococos co-colonizadores compiten entre sí a través de

una gran variedad de bacteriocinas (neumocinas) y péptidos relacionados con actividad antimicrobiana. La lisis de cepas susceptibles no solo permite la depredación, sino que también proporciona una fuente de ADN para la adaptación del depredador.

Desde una perspectiva evolutiva, la colonización nasofaríngea estable debería ser el principal *modus operandi* de *S. pneumoniae*, ya que esto permite una fácil transmisión a nuevos huéspedes. Como se señaló anteriormente, la inducción de quimiocinas y citocinas proinflamatorias, la regulación positiva de los receptores diana y el daño al epitelio respiratorio causado por la infección viral de la URT aumenta las cargas bacterianas en la nasofaringe. Esto facilita la transmisión bacteriana pero también aumenta la probabilidad de penetración de los tejidos del huésped y la progresión a enfermedad localizada o invasiva. La progresión a la enfermedad invasiva es más probable en niños pequeños, personas mayores y pacientes con rasgos específicos de estilo de vida y comorbilidades. También hay marcadas diferencias en la capacidad de cepas específicas de *S. pneumoniae* para causar enfermedades invasivas, lo cual no es sorprendente dada la gran heterogeneidad genética y fenotípica de esta bacteria.

La enfermedad neumocócica invasiva requiere la ruptura de las barreras epiteliales y / o endoteliales y la penetración de los tejidos, lo que finalmente proporciona acceso al torrente sanguíneo. En el caso de la meningitis, esto implica romper la barrera hematoencefálica (BBB). La invasión implica la interacción entre los restos ChoP y PAFR en la superficie de las células epiteliales respiratorias y endoteliales vasculares activadas por citoquinas, seguido del secuestro de la vía de reciclaje de PAFR para obtener la entrada.<sup>4</sup> Figura 2.

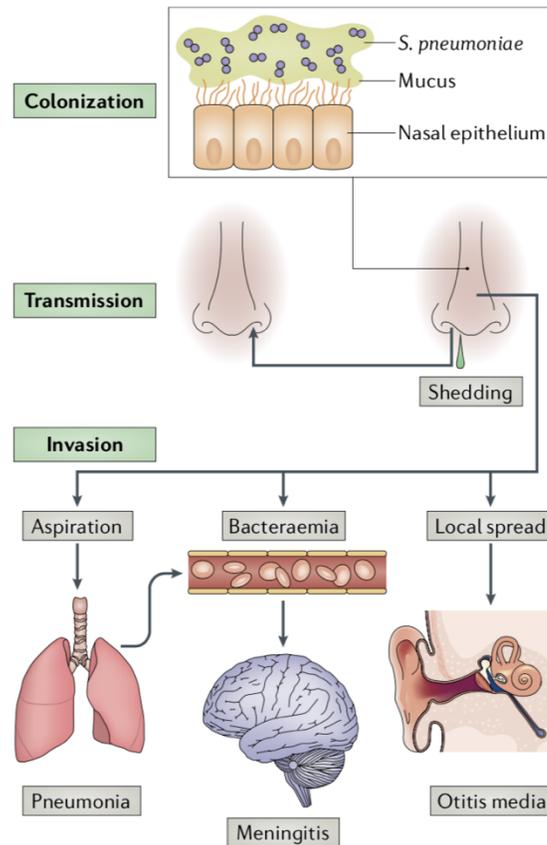


FIGURA 2

### 3. Presentación clínica

El espectro clínico de la enfermedad por *S. pneumoniae* es amplio e incluye la enfermedad neumocócica invasiva (ENI) que comprende aquellas entidades en las que el neumococo es aislado a partir de líquidos estériles, tales como la sangre o el líquido cefalorraquídeo (LCR). La enfermedad no invasiva incluye infecciones de la mucosa respiratoria, tales como la otitis media y la sinusitis, es decir, infecciones de sitios que con el tiempo son colonizados por el neumococo. La neumonía es catalogada como una enfermedad no invasiva. Sin embargo, alrededor de 25% de los casos cursan con bacteriemia; esta entidad se denomina neumonía bacteriémica y es catalogada como una ENI (Figura 3).

Los factores de riesgo para la infección neumocócica incluyen:

- Factores demográficos (edad, género)

- Factores étnicos y socioeconómicos
- Circunstancias de vida
- Condiciones médicas comórbidas por consumo de sustancias (alcohol y tabaco)
- infecciones respiratorias virales, especialmente influenza
- Inmunosupresión (incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el trasplante de órganos destinatarios)
- Diversas neoplasias
- Asplenia o disfunción esplénica (incluyendo células falciformes enfermedad)
- Ciertos medicamentos

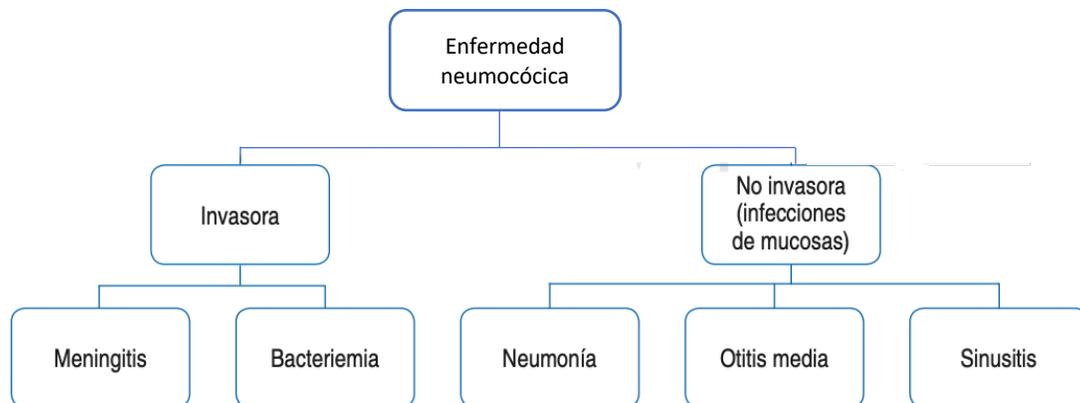


Figura 3

#### 4. Vacunación

La protección inmunológica en contra de la enfermedad neumocócica se lleva a cabo a través de anticuerpos opsonofagocíticos dirigidos en contra de los antígenos polisacáridos capsulares de la bacteria.<sup>5</sup>

La vacuna polisacárida neumocócica (PPV23) se ha recomendado desde mediados de la década de 1980 para su uso en adultos mayores de 65 años y en adultos más jóvenes (19-64 años) que tienen cualquiera de las condiciones de riesgo de enfermedad invasiva o neumonía neumocócica descritas anteriormente. En 2010,

el Comité Asesor de Inmunización de los Estados Unidos Las prácticas (ACIP) agregaron el asma como uno de los factores de riesgo de enfermedad pulmonar crónica y también indicaron que los adultos entre las edades de 19 a 64 años que fumaron deben recibir una dosis única de PPV23 además de la guía para dejar de fumar.

En 2012, el ACIP comenzó a recomendar PPV23 y PCV13 para personas con afecciones inmunocomprometidas, asplenia funcional o anatómica, fugas de líquido cefalorraquídeo (LCR) o implantes cocleares, con PCV13 primero y PPV23 al menos 8 semanas después.. Se recomendó que la dosificación posterior de PPV23 debería seguir las recomendaciones actuales, a saber, que se recomienda una segunda dosis después de 5 años en personas de 19 a 64 años con asplenia funcional o anatómica, pero no en aquellos con implantes cocleares o fugas de LCR. El ACIP también indicó que todas las personas deberían vacunarse a los 65 años y aquellos que habían recibido PPV23 antes de los 65 años por cualquier indicación deberían recibir una segunda dosis a los 65 años de edad o más, siempre que hayan transcurrido al menos 5 años entre las dos dosis.

Existe un debate considerable con respecto a la eficacia de PPV23 en la prevención de la neumonía neumocócica no invasiva, aunque la creencia general es que existe evidencia de protección contra la forma invasiva, al menos en adultos jóvenes sanos y en la población mayor sana. Sin embargo, la eficacia contra la forma invasiva no se ha demostrado entre personas inmunocomprometidas o muy ancianas. También hay evidencia de que en adultos mayores inmunocompetentes la efectividad de la vacuna puede disminuir con la edad y con el tiempo desde la vacunación. Si bien hay algunos estudios que documentan el beneficio contra las infecciones no bacteriemias, otros no han demostrado eficacia en la prevención de infecciones no bacteriemias o en la reducción de la mortalidad. No hay pruebas suficientes para respaldar un efecto protector del PPV23 contra las infecciones neumocócicas en pacientes con infección por VIH de alto riesgo. Evidencia de y en contra del beneficio de PPV23 en estos entornos ha sido ampliamente discutido en otros lugares.

La falta de eficacia de PPV23 en recién nacidos y lactantes <2 años de edad condujo al desarrollo de PCV. Mientras que PPV23 provoca una respuesta inmune humoral independiente de células T, la conjugación covalente de polisacáridos capsulares a una proteína transportadora activa una respuesta de anticuerpos dependiente de células T en el contexto de inmunidad mucosa y memoria inmunológica. Esto se ha confirmado en muchos estudios en los que el uso de PCV infantil se asoció no solo con una disminución sostenida de enfermedad invasiva y disminuciones en las hospitalizaciones de EE. UU por neumonía en niños, sino también con disminuciones significativas de forma invasiva en adultos mayores. Como se indicó, la respuesta dependiente de las células T también provoca memoria inmunológica, que prepara el sistema inmunitario para la exposición natural futura o para un efecto de refuerzo posterior con la revacunación.

Actualmente, la vacuna más común utilizada en niños es PCV13, introducida en los EE. UU. en febrero de 2010 y reemplazando PCV7. A partir de entonces, la FDA autorizó a PCV13 a usarse como una dosis única solo en adultos > 50 años en diciembre de 2011 para la prevención de neumonía neumocócica y enfermedad invasiva. Esta recomendación se basó en la inmunogenicidad comparativa.

PCV13 provoca una mayor respuesta inmune funcional que PPV23 para la mayoría de los serotipos cubiertos por PCV13, en adultos sin vacunas de 60 a 64 años de edad.

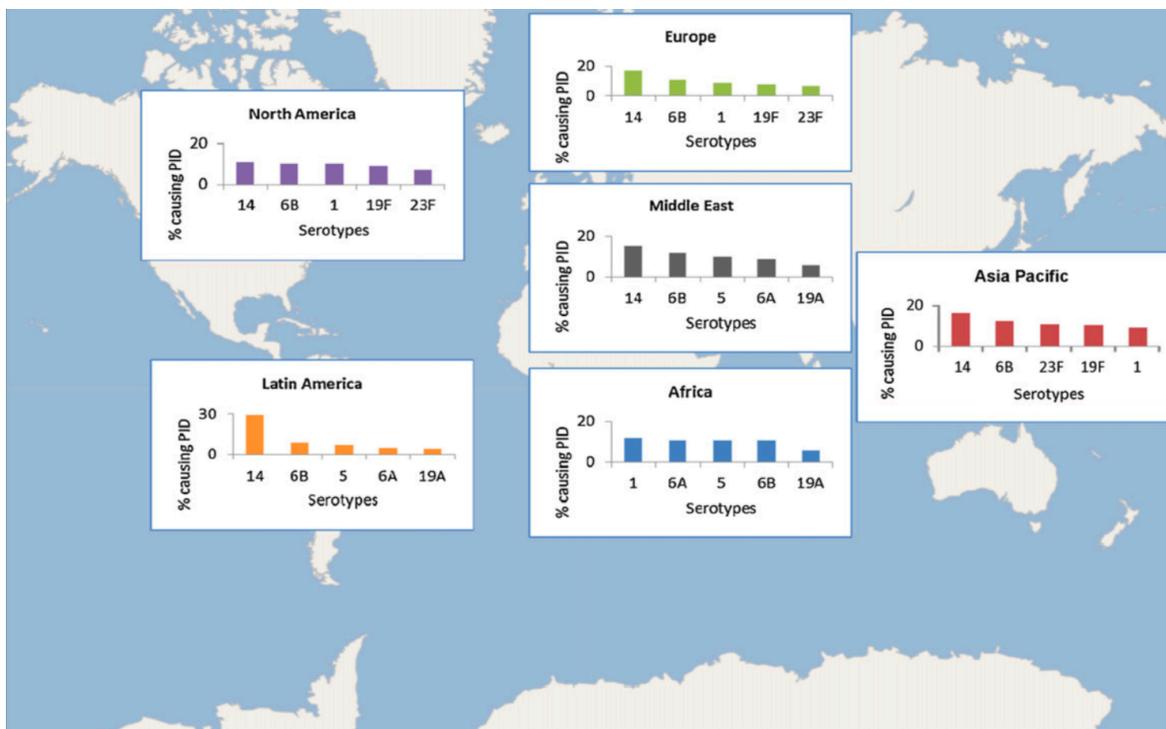
En adultos de 50 a 64 años, la vacunación inicial con PCV13 pareció dar como resultado un estado inmune que resulta en respuestas de anticuerpos de recuerdo tras la vacunación posterior con vacunas conjugadas o polisacáridas, mientras que la vacunación inicial con PPV23 da como resultado un estado inmune por el cual la vacunación posterior con PPV23 conduce a respuestas más bajas.

En adultos de 60 a 64 años, una vacuna inicial de PCV13 aumenta la respuesta inmune a la administración posterior de PPV23 para muchos serotipos comunes a ambas vacunas. En contraste, la vacunación previa con PPV23 se asoció con una respuesta disminuida a PCV13 con respecto a todos los serotipos.<sup>6</sup>

## 5. Epidemiología

Como consecuencia del uso extenso de antibióticos, la incidencia de la resistencia a los fármacos de *S. pneumoniae* ha aumentado de manera alarmante; hasta el 30% de las cepas de *S. pneumoniae* en todo el mundo ahora se consideran resistentes a múltiples fármacos. Por lo tanto, la vigilancia de la resistencia a los medicamentos de este microorganismo en varias poblaciones y grupos de edad es importante. Es probable que la selección de cepas resistentes a los antibióticos ocurra en la nasofaringe, siendo el sitio en que las cepas y otras especies de estreptococos del grupo Viridans están expuesta a la presión prolongada de antibióticos. Los estreptococos comensales pueden transmitir genes de resistencia, siendo el *S. pneumoniae* naturalmente competente para adquirir ADN exógeno a través de mecanismos de recombinación. Estos serotipos relacionados con resistencia están representados en gran medida por serotipos conocidos como pediátricos (6A, 6B, 9V, 14, 19A, 19F y 23F). Algunos serotipos (3, 18C, 15A y miembros del serogrupo 35) se detectan de forma rutinaria como colonizantes, sin embargo, han permanecido susceptibles a los antibióticos <sup>7,8,9</sup>.

El patrón de los serotipos predominantes asociados con enfermedad invasiva varía con la edad, el país y el tiempo. En los niños pequeños y los huéspedes inmunocomprometidos, predominan los serotipos menos inmunogénicos (por ejemplo, 6, 14, 19 y 23). Los serotipos más invasivos (por ejemplo, 1, 5 y 7) tienden a infectar a las personas sin comorbilidades. A nivel mundial, siete serotipos representan la mayor parte de la enfermedad invasiva (1, 5, 6A, 6B, 14, 19F y 23F) <sup>37, 38</sup>, los serotipos 1, 5, 6A / 6B y 14 son las cepas predominantes que causan enfermedad invasiva en la mayoría de los países (Figura 4), particularmente en los países en desarrollo. Los serotipos 1, 5 y 6A no están contenidos en PCV7.



Five most common serotypes causing invasive pneumococcal infection by continent (modified from Reinert et al<sup>37</sup>).

Figura 4

Una de las mejores estrategias para disminuir la morbilidad y la mortalidad asociadas con infecciones invasivas causadas por *S. pneumoniae* es la vacunación. Después de la introducción en los programas de vacunación, algunos países mostraron una disminución constante en los serotipos incluidos en la vacuna junto con un aumento de los serotipos raramente detectados previamente. En México, esta vacuna conjugada heptavalente (PCV7: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) se administró por primera vez a grupos seleccionados de niños de alto riesgo en 2006 y luego se incorporó al programa nacional de inmunización en 2008, la vacuna heptavalente fue reemplazada por la vacuna PCV13 (serotipos adicionales 1, 3, 5, 6A, 7F, 19A). Teniendo una cobertura > de 90% en < de 5 años. Después de 5 años de un programa de vacunación consistente, se documentó una reducción de casi el 70% de las infecciones causadas por los serotipos de PCV7 junto con un aumento gradual de los serotipos no incluidos de PCV7. De estos, una baja frecuencia corresponde a los incluidos en PCV10 y una alta frecuencia se distribuye por igual

en aquellos incluidos en PCV13 y aquellos no incluidos en cualquier vacuna conjugada disponible<sup>10,11</sup>.

La vigilancia epidemiológica de patógenos asociados con enfermedades prevenibles por vacunación en poblaciones y grupos de edad específicos es relevante para detectar cambios en la epidemiología a lo largo del tiempo y para orientar la política de salud pública y el desarrollo de estrategias de control<sup>12</sup>. En México, desde el año 1993, se tiene una vigilancia epidemiológica para *S. pneumoniae*. La red Sireva/Sireva II, coordinada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) tiene entre sus objetivos determinar la prevalencia de los tipos capsulares de *S. pneumoniae* mediante una vigilancia pasiva laboratorial, además de determinar los patrones de resistencia de los neumococos. En el estudio GIVEBPVac 2017 (INSP), de un total de 134 aislamientos de *S. pneumoniae*, son aislamientos provenientes de casos de meningitis o septicemia, es decir, son causantes de enfermedad invasora. Se observó claramente la disminución de este tipo de enfermedades en la población de menores de 2 años que son la población blanco para la vacuna conjugada contra neumococo (PCV13). Destacaron el número de casos de meningitis en población pediátrica y neumonías en todos los grupos de edad. Asimismo, siguieron observando el fenómeno de reemplazo de serotipos, particularmente en la población de menores de 5 años de edad, en donde registramos 25 (44%) casos de enfermedades invasivas y no invasivas causadas por serotipos incluidos en la PCV13 y 31(55.3%) causados por serotipos no incluidos en ella. Entre los serotipos de reemplazo que aparecen con mayor frecuencia se encuentran, al igual que lo reportado para el año 2016, los serogrupos 15 y 23 y destacamos la presencia de los serotipos 6C, 11A y 35B. El serotipo 19A sigue presentándose con mayor frecuencia en población de menores de 5 años de edad en quienes registraron 17 casos. Observaron que el incremento de este serotipo se observó en la población de menores de 5 años inmediatamente después de la introducción de la PCV7 y se mantuvo estable hasta un año posterior a la introducción de la PCV13 cuando comenzó a disminuir. Para el año 2017, sigue

siendo el serotipo más frecuentemente aislado de enfermedades invasivas y no invasivas.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

A pesar de la implementación de la vacunación en México y otras partes del mundo, las infecciones por *S. pneumoniae* continúan siendo causa de alta morbilidad y mortalidad, las infecciones actualmente se asocian a serotipos no vacunales, mismos que se identificaban con menor frecuencia asociados a enfermedades infecciosas previo a la universalización de la vacuna. Los serotipos no vacunales, tiene altas tasas de resistencia a múltiples fármacos.

En el INER se desconoce que serotipos producen enfermedad infecciosa en la población atendida. Anualmente en el laboratorio de microbiología clínica, son aislados 60 por *S. pneumoniae*. El estudio permitirá, conocer los serotipos que mas comúnmente se presentan en personas con una patología crónica pulmonar y la asociación de los diversos serotipos con la severidad y el desenlace de las personas que ingresan con una enfermedad infecciosa y así poder aportar nuevos datos que ayuden a cambiar la epidemiología nacional.

## **JUSTIFICACIÓN**

Con la introducción en México de la vacuna conjugada contra *S. pneumoniae* PCV7 en 2007 y en los últimos años de la PCV13 se observó un cambio en la distribución de los serotipos vacunales por los no vacunales principalmente aquellos que se encuentran colonizando el tracto respiratorio superior (nasofaringe; dentro de los serotipos se destacan los siguientes: 3, 6A, 6B, 7F, 14, 18C, 19A, 19F, 23F; debido a que en la nasofaringe están expuestos a una presión antibiótica prolongada, probable que se haga la selección de cepas más resistentes).

Por tal motivo es de suma importancia identificar la distribución de los serotipos que se encuentra actualmente circulando en la población del Instituto Nacional de

Enfermedades Respiratorias y su relación con el tipo de infección así como la severidad y el desenlace clínico con base a serotipo causante de la infección

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Serán los serotipos más comúnmente asociados a enfermedad invasiva y no invasiva de pacientes atendido en el INER similares a los reportados en la Red de vigilancia del Instituto Nacional de Salud Pública?

## **HIPÓTESIS**

Se observará un mayor número de serotipos no vacunales en los pacientes atendidos en el INER por una enfermedad invasiva y no invasiva por *S. pneumoniae* como ha sido reportado a nivel nacional y en otros países del mundo posterior al acceso universal de la vacunación.

## **OBJETIVO GENERAL**

Identificar los principales serotipos de *S. pneumoniae* causantes de enfermedad invasiva y no invasiva en pacientes atendidos en el INER durante 2018 y 2019.

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

- Describir las manifestaciones clínicas que se presentan en pacientes una enfermedad neumocócica invasiva o no invasiva.
- Determinar la asociación de los serotipos con el tipo de enfermedad neumocócica.
- Determinar la asociación de los diferentes serotipos con mortalidad.

- Identificar el patrón de susceptibilidad de los diferentes serotipos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A) Lugar del estudio**

Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) en colaboración con el Departamento de Evaluación de Vacunas del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP)

### **B) Tipo de estudio**

Ambispectivo, transversal y descriptivo.

### **C) Descripción de la población del estudio**

Se incluirán pacientes que fueron atendidos en el INER o que serán atendidos, que cuenten con datos de enfermedad infecciosa y que tengan desarrollo de *S pneumoniae*.

### **D) Procedimientos del estudio:**

Las cepas de bacterias identificadas en el Laboratorio clínico del INER como *S. pneumonie*, mediante el uso de la prueba de Taxo P (optoquina), se enviarán al laboratorio de referencia del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), cumpliendo con las medidas de seguridad para la transportación. En este laboratorio de referencia se realizará la confirmación de la identificación de las cepas mediante procedimientos estándar, pruebas para la solubilidad de la bilis y la sensibilidad a la optoquinina. Una vez que se corrobora y la cepa enviada haya sido identificada como *S. pneumoniae*, se realizará la prueba de Quellung con antisueros específicos de tipo y factor (Statens Serum Institut, Copenhague, Dinamarca), reacción que permite conocer el serotipo al que pertenece al neumococo.

La información clínica, será recabada de manera retrospectiva en cuanto de obtenga el resultado del serotipo.

### **E) Criterios de inclusión y exclusión**

Inclusión:

Pacientes que tengan una enfermedad invasiva o no invasiva por *S. pneumoniae* y que cuenten con expediente clínico y prueba de serotipificación realizada en el laboratorio de referencia.

Exclusión:

Pacientes que cuenten con un aislamiento clínico identificado como *S. pneumoniae* sin expediente clínico.

Pacientes que cuenten con un aislamiento clínico identificado como *S. pneumoniae* sin datos de una enfermedad infecciosa.

### **F) Captura, procesamiento, análisis e interpretación de la información**

La información se obtuvo de los expedientes clínicos, bitácoras del laboratorio de microbiología clínica del INER y del INPS, la información se recolectó en un formato de recolección de datos. Se realizó una base de datos con la información recabada.

Para el análisis estadístico se usó el programa SPSS 21.

Se realizó un análisis descriptivo sobre variables clínicas, epidemiológicas, los resultados se expresaron en medias, medianas y porcentajes. Se realizó un análisis comparativo de las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes que sean clasificados como enfermedad invasiva, para lo que se usaron pruebas paramétricas y no paramétricas para comparar las variables cualitativas y prueba de  $X^2$ , para variables cualitativas.

### **G) Consideraciones éticas**

De acuerdo con lo establecido en el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, este estudio se considera una investigación sin riesgo.

No se realizará ninguna intervención a los pacientes. Los datos personales de los pacientes se anonimizarán de tal manera que únicamente se manejarán números de cepas e información personal codificada.

## **RESULTADOS**

### Datos sociodemográficos

Se encontraron un total de 30 pacientes con un cultivo con crecimiento de *Streptococcus pneumoniae*.

La edad promedio fue de 40.93 años  $\pm$  16.95. La distribución por edad se muestra en la figura 1. Se observó un mayor número de casos en hombres, la relación hombre/mujer fue de 1.7:1.

De los 30 casos, el 43% (13) tenían antecedentes de inmunosupresión, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) fue la afección más común, responsable del 46% del total de las causas de inmunosupresión, seguidos de Diabetes mellitus (5/13) y solo un paciente incluido en el estudio tenía antecedente de Cáncer. La media de CD4 y Carga viral (CV) fue de 25 cel/mm<sup>3</sup> (IQR 22,5-288) y 338,592 copias (IQR 80124 – 1059275) respectivamente.

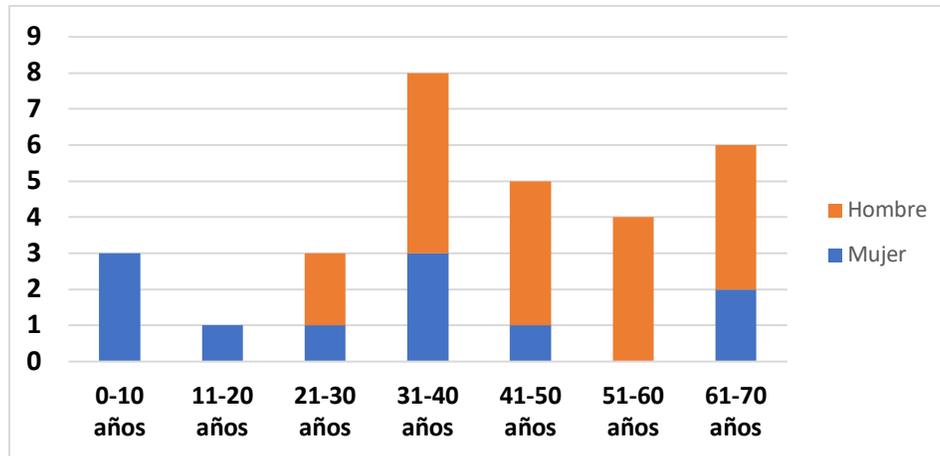


Figura 1. Distribución por edad y sexo de los pacientes con un *S. pneumoniae*

| CARACTERÍSTICA                 | n= 30              |
|--------------------------------|--------------------|
| <b>Edad promedio (años±DE)</b> | 40.93 años ± 16.95 |
| <b>Sexo</b>                    |                    |
| Femenino (n,%)                 | 11 (37)            |
| Masculino (n,%)                | 19 (63)            |
| <b>Comorbilidades</b>          |                    |
| Infección por VIH              | 6 (20)             |
| DM2                            | 5 (17)             |
| Asma                           | 2(7)               |
| Enfermedades autoinmunes       | 1 (3)              |
| EPOC                           | 1 (3)              |
| Cancer                         | 1 (3)              |

Tabla 1. Características generales de los pacientes con infecciones respiratorias por *S pneumoniae*

El serotipo de *S pneumoniae* más frecuentemente reportado fue el 19 A, seguido del serotipo 3. 5 *S pneumoniae* no fueron posibles identificar

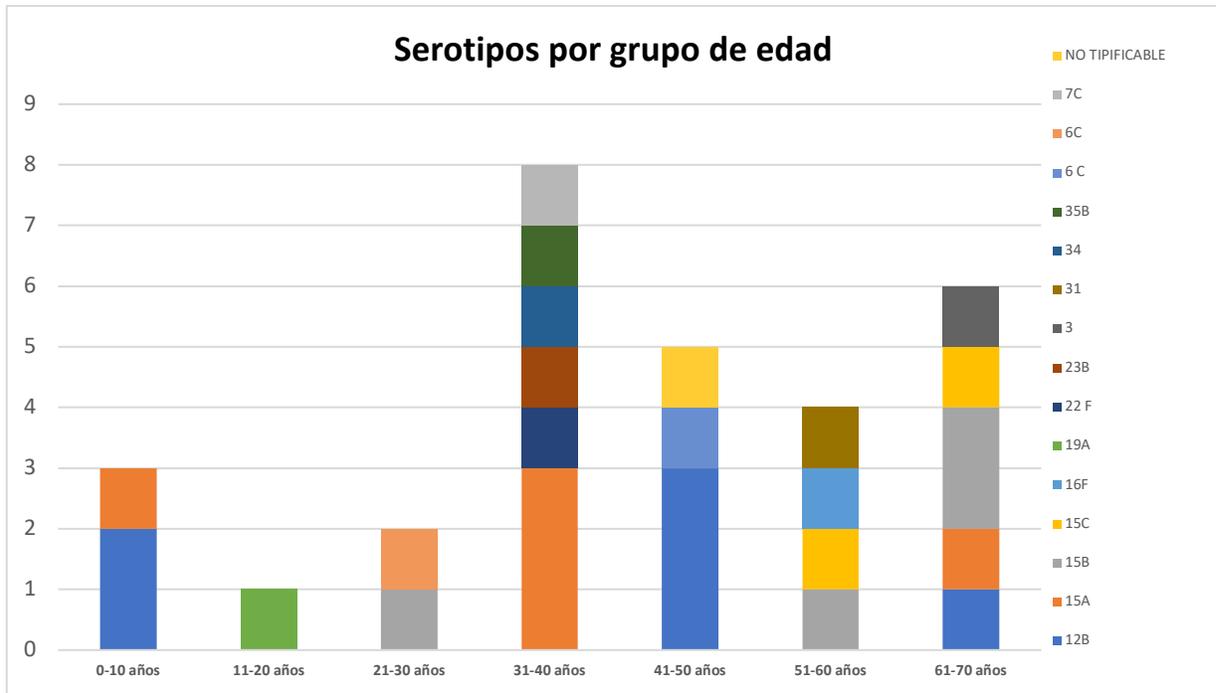


Figura 1. Distribución por edad de los diferentes serotipos de los *S. pneumoniae*

LA resistencia a las penicilinas y macrólidos encontrada de los *S pneumoniae* causantes de infecciones que encontramos fue del 50% y 33%. Los serotipos con resistencia a Ceftriaxona fueron el serotipo 19A y el serotipo 15 B. No hay resistencias reportadas para Vancomicina

|             | Resistencia a penicilia | Resistencia Claritromicina | Resistencia Amoxicilina | Resistencia Ceftriaxona | Resistencia Vancomicina |
|-------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <b>12B</b>  | 0%                      | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>15A</b>  | 0%                      | 100%                       | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>15B</b>  | 100%                    | 100%                       | 0%                      | 100%                    | 0%                      |
| <b>15C</b>  | 100%                    | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>16F</b>  | 100%                    | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>19A</b>  | 0%                      | 67%                        | 0%                      | 50%                     | 0%                      |
| <b>22 F</b> | 83%                     | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>23B</b>  | 0%                      | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>3</b>    | 0%                      | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>31</b>   | 0%                      | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>34</b>   | 0%                      | 100%                       | 0%                      | 0%                      | 0%                      |
| <b>35B</b>  | 100%                    | 0%                         | 0%                      | 0%                      | 0%                      |

|                       |      |      |    |    |    |
|-----------------------|------|------|----|----|----|
| <b>6 C</b>            | 67%  | 100% | 0% | 0% | 0% |
| <b>7C</b>             | 100% | 0%   | 0% | 0% | 0% |
| <b>NO TIPIFICABLE</b> | 60%  | 20%  | 0% | 0% | 0% |

Únicamente el 13% de pacientes requirió algún tipo de soporte ventilatorio. La mediana de días con ventilación mecánica fue de  $2,5 \pm 7.34$  días. El promedio de estancia hospitalaria fue de 5.5 días. Todos los pacientes egresaron por mejoría.

## Discusión

Como observamos con los datos reportados a nivel mundial, la variabilidad de presentación de cada serotipo se relaciona con las características demográficas, raza, sexo y edad de las personas. Siendo en nuestro estudio las personas entre 31 a 40 años, las que más riesgo tuvieron de tener alguna presentación clínica por *S. pneumoniae*. Así mismo se observó que el tener VIH como comorbilidad es un alto factor de riesgo para tener enfermedad por *S. pneumoniae* y esto se relaciona con la carga viral y CD4; seguido de otro factor de riesgo como diabetes mellitus 2, que al igual que la infección por VIH, es de las más frecuentes en nuestro país. Los serotipos que se presentaron en la mayoría de los casos fueron el 19A y 3, que se relaciona con lo reportado a nivel nacional. Otra característica importante observada en nuestro estudio, fue que si hay elevada incidencia de resistencia a la penicilina y macrólidos, siendo del 50 y 33 % respectivamente y principalmente por el serotipo 19A y 15B, lo que nos sugiere que el abuso de antibióticos y la frecuente colonización por estos microorganismos. Un punto importante que se observó en el estudio, fue que no hubo mayor presencia de enfermedad invasiva y así como índice de mortalidad bajo.

## **CONCLUSIÓN**

En conclusión, el serotipo más común es el 19A. Se observó con resistencia alta a las penicilinas y macrólidos. El tratamiento de primera elección puede ser amoxicilina + ácido clavulánico por no encontrarse ninguna resistencia. La mortalidad por *S. pneumoniae* es baja.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Valeria Prado J. Conceptos microbiológicos de *S. pneumoniae*. Rev. Chil. Infecto (2001), pág 6-9.
2. Birgitta Henriques-Normark and Elaine I. Tuomanen. The pneumococcus: Epidemiology, Microbiology and Pathogenesis. Cold Spring Harb Perspect Med 2013; pág 1-15.
3. Charles Feldman, Ronald Anderson. Review: Current and new generation pneumococcal vaccines. Journal of Infection (2014) xx, 1-17
4. Jeffrey N. Weiser, Daniela M. Ferreira and James C. Paton. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. 2018 Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature . Pág 1-13.
5. Juan Carlos Tinoco. La neumonía neumocócica y su prevención mediante una vacuna: resultados del estudio CAPITA. Medigraphic. Mayo-Agosto 2015 / Volumen 10, Número 2. p. 52-57
6. Sam Mehr, Nicholas Wood. *Streptococcus pneumoniae* – a review of carriage, infection, serotype replacement and vaccination. Paediatric Respiratory Reviews 13 (2012) 258–264
7. R Jebaraj, T Cherian, P Raghupathy, *et al.* Nasopharyngeal colonization of infants in southern India with *Streptococcus pneumoniae*. Epidemiol Infect, 123 (1999), pp. 383-388.  
N Mbelle, RE Huebner, AD Wasas, A Kimura, I Chang, KP Klugman  
Immunogenicity and impact of nasopharyngeal carriage of a nonavalent pneumococcal conjugate vaccine J Infect Dis, 180 (1999), pp. 1171-1176.
8. T Smith, D Lehmann, J Montgomery, M Gratten, ID Riley, MP Alpers Acquisition and invasiveness of different serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in young children Epidemiol Infect, 111 (1993), pp. 27-39.
9. JA Scott, AJ Hall, A Hannington, *et al.* Serotype distribution and prevalence of resistance to benzylpenicillin in three representative populations

of *Streptococcus pneumoniae* isolates from the coast of Kenya Clin Infect Dis, 27 (1998), pp. 1442-1450

10. K.A. Poehling, T.R. Talbot, M.R. Griffin, *et al.* Invasive pneumococcal disease among infants before and after introduction of pneumococcal conjugate **vaccine**. J Am Med Assoc, 295 (2006), pp. 1668-1674.
11. J.L. Díaz-Ortega, E. Ferreira-Guerrero, B. Trejo-Valdivia, *et al.* Vaccination coverage in children and adolescents in Mexico: vaccinated, under vaccinated and non-vaccinated. Salud Publica Mex, 55 (Suppl 2) (2013), pp. S289-S299
12. J Henrichsen Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae* J Clin Microbiol, 33 (1995), pp. 2759-2762.
13. Echaniz-Aviles G, Soto-Nogueron A, Miranda-Novales G, Carnalla-Barajas MN, Velazquez-Meza ME, Solorzano-Santos F. *Streptococcus pneumoniae* Serotypes Identified in Mexican Children with Invasive Disease Before and After the Introduction of PCV7 (1993-2012). Arch Med Res 2015;46:149–53.