



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS
ENFERMEDADES INVASIVAS OCASIONADAS POR
Streptococcus pneumoniae PILI POSITIVO EN
PACIENTES PEDIÁTRICOS DURANTE EL PERIODO
2006-2007.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PEDIATRIA

PRESENTA:

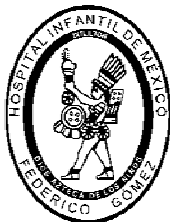
Dra. Arizbeth Lorena Hidalgo Galicia

Director:

Dra. Margarita Nava Frías

Director:

M. en C. Marcia Úrban Reyes



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

MÉXICO, D. F.

Febrero 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

DIRECTORAS DE TESIS:

Dra. Margarita Nava Frías

**DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGIA
DEL HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
FEDERICO GOMEZ**



**HOSPITAL INFANTIL *de* MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ**

Instituto Nacional de Salud

M. en C. Marcia Urban Reyes.

**LABORATORIO DE GASTROENTEROLOGÍA DEL
HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ**

AGRADECIMIENTOS

A Dios por la maravilla de la vida, por mi vida, por el camino andado, por cada día, por permitirme estudiar y estar aquí.

A mis Padres por acompañarme cada momento, apoyarme y creer en mí.

A mi hermano Luis Fernando por ser mi mejor ejemplo, porque su vida es la mejor muestra del compromiso.

A la Dra. Nava y a la M. en C. Marcia y por su interés en este tema, su asesoría y colaboración.

A Fernando por coincidir, por compartir, por estar.

TEMARIO

I. MARCO TEÓRICO	
<i>a. Antecedentes</i>	6
<i>b. Planteamiento del problema</i>	14
<i>c. Justificació</i>	15
<i>d. Hipótesis</i>	16
<i>e. Objetivos</i>	17
II. MATERIAL Y METODOS	18
III. CRONOGRAMA	27
IV. RESULTADOS	28
V. DISCUSIÓN	32
VI. CONCLUSIONES	34
VII. TABLAS Y GRAFICOS	35
VIII. BIBLIOGRAFÍA	42

INTRODUCCION

El *S. pneumoniae* es el principal agente etiológico de infecciones de vías respiratorias, principal causa de sepsis y meningitis menores de dos años. Su cápsula es uno de sus principales factores de virulencia, así como su medio de clasificación, dentro de sus diversos componentes patogénicos, actualmente se está estudiando al Pili como otra estructura que podría estar involucrada en la adherencia e invasividad a las células. Hasta el momento solo se cuenta con estudios en modelo murino que han demostrado que el Pili mejora la adherencia e invasividad, y está relacionado en la producción de respuesta inflamatoria sistémica más intensa.

Es por esto que surge la inquietud de estudiar las posibles relaciones clínicamente evidenciables, entre infecciones ocasionadas por *S. pneumoniae* pili positivos vs las ocasionadas por neumococos pili negativo. Realizamos un estudio de tipo transversal analítico descriptivo comparativo de 28 pacientes con aislamientos bacterianos de *S. pneumoniae*, encontrando que el 100% las cepas con pili provocaron enfermedad invasiva, se relacionan con mayor respuesta inflamatoria sistémica; este estudio sirve de base para buscar posteriormente la correlación clínica existente entre *S. pneumoniae* y enfermedad invasiva.

CARACTERISTICAS CLINICAS DE LAS ENFERMEDADES INVASIVAS OCACIONADAS POR *Streptococcus pneumoniae* PILI POSITIVO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DURANTE EL PERIODO 2006-2007.

I. MARCO TEÓRICO

a) EPIDEMIOLOGIA

Streptococcus pneumoniae es el principal agente etiológico de las enfermedades infecciosas de vías respiratorias superiores tales como otitis media aguda y sinusitis aguda y de enfermedades invasivas como neumonías, meningitis y bacteriemia^{1 2}. La bacteriemia oculta es la enfermedad invasiva mas frecuente en niños menores de tres años³. Se calcula que fue responsable de aproximadamente un millón de muertes en niños menores de 5 años durante el año 2005, la mayoría de éstas ocurrieron en países en vías de desarrollados.¹

Más del 90% de los niños entre los seis meses y cinco años de edad son portadores de *S.pneumoniae* en la nasofaringe¹ aunque otras bibliografías señalan porcentajes entre el 21 y 59%⁴. El antecedente de una infección viral del tracto respiratorio superior es un factor importante para el desarrollo de la enfermedad por *S. pneumoniae* ya que provoca alteraciones en el epitelio respiratorio¹. Las infecciones por *S. pneumoniae* se pueden convertir en invasivas a partir de un sitio inicial de colonización de la nasofaringe. La infección invasiva ocasionada por *S: pneumoniae* se define como el aislamiento de *S: pneumoniae* de sitios normalmente estériles, tales como sangre, líquido cefalorraquídeo y líquido pleural; reportándose en Estados Unidos en menores de dos años 167/100 000 casos/año¹

Los niños menores de dos años son los más afectados por enfermedad invasiva por neumococo, con un pico entre los seis y once meses de edad.

La Otitis media aguda (OMA) es la forma más frecuente de enfermedad no invasiva provocada por neumococo, con mayor frecuencia de presentación en niños entre los seis a dieciocho meses de edad, siendo el agente etiológico responsable de aproximadamente el 50% de estas infecciones¹

b) MICROBIOLOGIA

El *Streptococcus pneumoniae* es un diplococo Gram positivo con cápsula polisacárida, catalasa negativo. Produce alfa-hemolisina que degrada la hemoglobina produciendo un color verdoso en las placas de agar sangre, conocido como alfa hemólisis. El tiempo medio de aislamiento de neumococos es de 14-15 horas y rara vez más de 24 horas. La pared bacteriana está constituida de peptidoglicanos y ácido teicoico. Existen cepas capsuladas y no capsuladas, es con base en los antígenos capsulares que se han clasificado en serotipos y se sabe que la virulencia está relacionada con la presencia, composición y cantidad de estos polisacáridos capsulares antifagocíticos. Se han identificado aproximadamente 90 serotipos a partir de estos polisacáridos capsulares. Actualmente los serotipos 6, 14, 18,19 y 23 son responsables del 60 al 80% de las infecciones a nivel mundial Los serotipos 4, 6B, 9V, 14, 19F y 23 F representan los serotipos más frecuentemente aislados en Estados Unidos y en países desarrollados; los cuales se encuentran contenidos en la vacuna conjugada heptavalente ¹. La incidencia de serotipos causantes de enfermedad invasiva varía en cada país.

En México no se cuenta con información específica acerca de la prevalencia de serotipos, en el estudio realizado por Villa-Señor y cols en 2009 realizado en el Instituto Nacional de Salud pública (INSP) encontró que los serotipos mas frecuentes en meningitis son 1, 3, 4,6A, 6 B, 7F,19A, 19F, 23F y 31, siendo el serotipo 19 F el mas frecuente. En OMA se identificaron 19F, 3, 11, 19A, 29, 35,42; en neumonía 19F y 35 y en peritonitis el serotipo 19 fue el mas común. Aunque este estudio tuvo una muestra limitada revela que sus resultados son similares a los obtenidos en otros países latinoamericanos. ⁵

Otro estudio, también realizado en el INSP, por Espinoza de los Monteros en 2007, en el que se describen aislados de *S. pneumoniae* en niños sanos que asisten a guarderías, reporta que 29.9% de niños entre 2 meses y 6 años son portadores asintomáticos de *S.pneumoniae*. Los serotipos más frecuentemente

identificados fueron: 19F (23%), 6B, 23F y 6A. Las limitantes de este estudio fueron que la muestra solamente incluía niños que acuden a guarderías y no se hace correlación con la vacunación de ellos.⁶

In vitro la adhesión de los neumococos capsulados es mucho menor que la de los neumococos no virulentos no capsulados⁸, incluso aunque la expresión de la capsula es esencial para la colonización exitosa de las vías respiratorias superiores. Esta observación sugiere que *in vivo* el *S. pneumoniae* se adhiere a pesar de la producción de una cápsula delgada.⁹

c) OTROS FACTORES DE VIRULENCIA

Otros factores de virulencia que promueven la invasividad y adherencia bacteriana; son carbohidratos y proteínas de superficie de la bacteria como la neumolisina, neuraminidasa y la proteína A fijadora de colina (CbpA).¹⁰ La Neumolisina es una toxina citolítica, forma poros en las membranas celulares, libera factor de necrosis tumoral, activa la cascada del complemento, inhibe la función ciliar de los neumocitos y aumenta la permeabilidad vascular dañando el endotelio. La neuraminidasa hidroliza glucoproteínas y glucolípidos celulares, se ha relacionado con la diseminación y multiplicación en pulmones la CbpA favorece la invasión bacteriana.^{1 11}

d) SEROTIPOS CAPSULARES Y VACUNAS

Los serotipos capsulares 4, 6B, 9V, 14, 19F y 23 F representan los serotipos más frecuentemente aislados en Estados Unidos y en países desarrollados; los cuales se encuentran contenidos en la vacuna conjugada heptavalente.¹ La aplicación de dicha vacuna en población infantil ha disminuido la colonización en nasofaringe por estos serotipos con la consecuente disminución del riesgo de infección y enfermedad invasiva. La vacuna previene hasta en un 97% de bacteriemias, meningitis y neumonía. Los niños vacunados incrementan las infecciones por cepas no incluidas en la vacuna.¹

e) FACTORES DE RIESGO PARA ENFERMEDAD INVASIVA

Existen factores que incrementan el riesgo de padecer enfermedad invasiva por *S. pneumoniae*, los cuales se clasifican en factores de alto riesgo, de alto riesgo sospechable y de riesgo moderado^{1,4}:

1.- Factores de alto riesgo: Edad menor de 24 meses, anemia de células falciformes, asplenia (congénita o adquirida) o disfunción esplénica. Implantes cocleares. Relacionados con una incidencia de enfermedad invasiva $\geq 150/100\,000$ personas /año.

2.- Factores de sospecha de alto riesgo: Inmunodeficiencia congénita, incluyendo alteraciones humorales o celulares, alteraciones del complemento y de la fagocitosis, cardiopatías crónicas, enfermedad pulmonar crónica, malformaciones congénitas que alteren el flujo del líquido cefalorraquídeo, fractura de cráneo, procedimientos neuroquirúrgicos, insuficiencia renal crónica, síndrome nefrótico, terapia con inmunosupresores o radioterapia y trasplante de órgano sólido. Diabetes mellitus.

3.- Riesgo moderado: Todos los niños entre 24 a 35 meses de edad. Niños de 36 a 59 meses que se atienden en guarderías. Niños de 36 a 59 meses de raza americana, indio-americana o descendientes de nativos de Alaska. Estos factores se relacionan con una incidencia de $\geq 20/100\,000$ pacientes por año¹

En los pacientes con asplenia anatómica o funcional existe una opsonización deficiente y ausencia de la función de filtrado de los neumococos circulantes del bazo, lo anterior incrementa el riesgo de enfermedad invasiva.

En la anemia falciforme y otras hemoglobinopatías se incrementa el riesgo 30-100 veces de enfermedad neumocócica invasiva. Los niños con anemia falciforme presentan además de la asplenia funcional, déficit de la vía de la properdina anticuerpo-independiente (alternativa) de la activación del complemento.

En los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia B y T (agammaglobulinemia o inmunodeficiencia combinada grave) o pérdida de inmunoglobulina (síndrome

nefrótico), el principal problema es una alteración en la fagocitosis por un defecto en el anticuerpo anticapsular opsónico.

En el estudio realizado por Thomas Hjuler, 2008 se valora el riesgo de enfermedad invasiva ocasionada por *S.pneumoniae* en enfermos crónicos, incluyendo pacientes con cáncer(hematológico y no hematológico), enfermedad renal(malformaciones renales, Insuficiencia renal, glomerulonefritis) enfermedades neurológicas(malformaciones congénitas, hidrocefalia, parálisis cerebral, epilepsia), cardiopatías (congénitas, valvulopatías, cardiomiopatías, alteraciones de la conducción)enfermedades metabólicas, alteraciones inmunológicas y enfermedad pulmonar crónica. El autor concluye que los niños con enfermedad crónica tienen 1.4 veces mas riesgo de desarrollar enfermedad invasiva que los niños⁷

f) PILI

En bacterias Gram negativas se ha identificado y estudiado una estructura que mejora la invasión y colonización, esta estructura denominada Pili también se ha comenzado a estudiar en bacterias Gram positivas como *Corynebacterium diphtheriae*¹², *Actinomyces sp*, Estreptococos del grupo A y B así como en *S. pneumoniae*. El Pili en bacterias Gram positivas se describió por primera vez en 1968 en *Corynebacterium renale* por Yanagawa y col, utilizando microscopia electrónica⁹. En 1998 se reportó la presencia de Pili en *Actynomices naeslundii* y se identifica como una estructura que tiene la finalidad de adherirse a proteínas salivares ricas en prolina las cuales están presentes en el esmalte dental⁹. Tonthat y Schneewind fueron los primeros en describir el Pili de *C.diphtheriae*, el cual es muy parecido al Pili de los tres principales estreptococos patógenos que causan enfermedades invasivas en humanos *S. pyogenes*, *S. agalactia* y *S. pneumoniae*⁹

Esta estructura se ha identificado por microscopia electrónica y ha sido estudiada genética y bioquímicamente⁹. En 2003 mediante microscopia electrónica y anticuerpos marcados con partículas de oro demostraron que el Pili de

C. diphtheriae está compuesto por una proteína como principal componente, y otras dos proteínas auxiliares.⁹

Se ha encontrado que el Pili de los Gram positivos está formado por péptidos unidos por enlaces covalentes cruzados con características LPXTG, ensamblados por sortasas. El proceso de ensamble del Pili se da por la vía “Sec”, por la cual las proteínas secretadas con características LPXTG se unen a la membrana celular por medio de su extremo carboxilo terminal, entonces las sortasas reconocen el dominio LPXTG formando un enlace tio-éster covalente entre la cisteína de la sortasa y el grupo carboxilo de la treonina. Las proteínas secretadas se van “apilando” para formar el Pili.⁸

Los genes que codifican para las proteínas formadoras del Pili están agrupados en el mismo locus genético y forman parte de un operon. Los genes que codifican para las sortasas se encuentran cerca de estos, formando juntos una isleta. En el caso de *S. pneumoniae* la isla que codifica para el pili es de 14 kb, y se le llama islote *rlrA*, formada por siete genes, siendo los principales *rrgA*, *rrgB* y *rrgC*.¹³

⁸La isla *rlrA* se encuentra ausente en las cepas no patógenas de Neumococo la D39 y R6.⁸

Los componentes del Pili en estos estreptococos invasivos, son proteínas similares a miembros de una larga familia de proteínas que presentan sitios de reconocimiento para moléculas de la matriz extracelular como fibronectina, fibrinógeno, colágena, laminina y vitronectina. Lo que sugiere fuertemente su participación en la adherencia e invasión bacteriana.

Barochi y cols describieron por primera vez en 2006 el papel del Pili en la patogénesis, al demostrar que un aislado clínico de *S. pneumoniae*, que presenta Pili (TIGR4) se adhiere mejor a las células epiteliales del pulmón en comparación con dos cepas isogénicas, no patógenas que carecen de los genes codificadores para el Pili (D39 y R6). Al inocular con estas cepas epitelio nasal de ratones, la bacteria con Pili se mostró más virulenta. Este grupo de trabajo concluyó que la mayor virulencia podría estar relacionada con la respuesta inflamatoria severa que

ocasiona el Pili lo que provocó probablemente una alta eficiencia en la adhesión de la bacteria a las células de la respuesta inmune innata.⁸

La prevalencia del Pili en el *S. pneumoniae* aun no se ha definido ya que diversos grupos de estudio la han reportado dependiendo de diferentes genes identificados. Un estudio previo evaluó la presencia de genes codificadores para sortasas en 82 cepas y se encontraron componentes de isletas de pili en 17%

Aguiar y Serrano en 2007 concluyeron que el Pili es una estructura que tiene mayor prevalencia en algunos serotipos vacúnales y no está asociado con mayor virulencia. La frecuencia de su presencia en estas cepas fue de 21.4%, describieron que no había diferencia entre neumococos aislados de nasofaringe versus otros sitios estériles del organismo. El serotipo 6A, el cual es referido en los dos estudios mencionados previamente del INNSP, como uno de los mas frecuentemente encontrados como colonizador de faringe, pero también de los mas frecuentemente aislados en OMA y en meningitis, fue el más común con 8% positivo para Pili, sin embargo; cabe resaltar que este grupo utilizó el gen *rrgC* para su estudio el cual no es un gen que codifica para la proteína principal del Pili. Por lo que concluyen que las cepas con resultados negativos por PCR para el gen *rrgC* pudieran expresar el Pili.¹³

En el estudio realizado por Aguiar y Serrano en 2008, se identifico la isleta *rlrA* en neumococos invasivos, encontrando que 27% de su muestra fueron positivos para esta isleta. Los serotipos que resultaron positivos para la isleta *rlrA* fueron 1,3,4,6^a,6B,9V,13,14,19A,19F,35B, por lo tanto el 83% de estos serotipos se encuentran presentes en la vacuna antineumococica heptavalente(4,6B,9V,14,19F).¹³

Modelos experimentales de Neumonía y Sepsis en ratones han sugerido un papel importante del Pili en la virulencia del *S. pneumoniae*, demostrando al compararlos con neumococos mutantes carentes de Pili, que los primeros tienen mayor invasividad. También se demostró que los ratones inmunizados con antígenos del Pili desarrollan una respuesta inmunológica protectora contra ésta estructura⁸.

Actualmente conocemos los genes codificadores del Pili en *S. pneumoniae* y se han realizado estudios in vitro en células de epitelio respiratorio y en modelo murino en los cuales se demuestra que la presencia del Pili mejora la adherencia e invasividad al compararlos frente a modelos mutantes carentes de Pili, pero no se ha encontrado referencia bibliográfica del comportamiento del *S. pneumoniae* Pili positivo en el cuerpo humano, por lo tanto aun no sabemos si la presencia de Pili en el neumococo mejora la adherencia e invasividad in vivo; por lo tanto realizaremos un estudio decriptivo, transversal comparativo en el cual se describirán las características clínicas de infecciones ocasionadas por *S. pneumoniae* Pili positivo y Pili negativo, comparando los casos los neumococos Pili positivos que hayan provocado una infección invasiva vs los casos de aislamientos de neumococo de sitios colonizados (faríngeos, aspirados bronquiales) sin relevancia clínica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

PROBLEMA GENERAL

¿Cuáles son las características clínicas de las enfermedades invasivas ocasionadas por *Streptococcus pneumoniae* pili positivo en pacientes pediátricos atendidos durante el periodo 2006-2007?

PROBLEMAS ESPECIFICOS

1. ¿Cuál es la frecuencia de infecciones invasivas ocasionadas por neumococos pili positivos en pacientes pediátricos atendidos durante el periodo 2006-2007?
2. ¿Existen diferencias en la presentación clínica de las infecciones ocasionadas por neumococos pili positivos vs pili negativo?
3. ¿Existen diferencias en la gravedad clínica de las infecciones ocasionadas por neumococos pili positivos vs pili negativo?

JUSTIFICACION

El *S. pneumoniae* es el principal agente etiológico de infecciones de vías respiratorias y de sépsis así como de meningitis en niños menores de 5 años. Posee diversos mecanismos de patogenicidad bien descritos, sin embargo poco se conoce sobre la participación del pili para el desarrollo de enfermedad invasiva. El Pili es una estructura bacteriana que permite la adhesión y colonización a las células e incrementa la virulencia de la bacteria, fenómeno ampliamente estudiado en bacterias Gram negativas. Estructuras similares se han identificado en bacterias Gram positivas, aunque aun se encuentran en estudio su participación en la patogenicidad, se considera que tienen función similar a la observada en bacterias gram negativas, al mejorar la adherencia e invasividad bacteriana de acuerdo a estudios realizados en modelo murino. Por lo tanto este es el primer trabajo que pretende describir y comparar las características de la infecciones ocasionadas por *S: Pneumoniae* que presentaron Pili de aquellas cepas pili negativo, y si esta estructura bacteriana esta presente en las cepas provenientes de enfermedad invasiva vs no invasiva en pacientes pediátricos.

HIPOTESIS

Los pacientes con enfermedades invasivas presentaran un mayor porcentaje de aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* pili positivo en comparación con los pacientes con enfermedad no invasiva.

HIPOTESIS ESPECÍFICAS

1. La frecuencia de infecciones invasivas ocasionadas por neumococos pili positivos es mayor que la encontrada en enfermedad no invasiva.
2. La gravedad de la presentación clínica de la enfermedad ocasionada por neumococo pili positivo es mayor que la ocasionada por cepas pili negativo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Describir las características clínicas de las enfermedades invasivas ocasionadas por *Streptococcus pneumoniae* pili positivo en pacientes pediátricos atendidos durante el periodo 2006-2007-

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Describir la frecuencia de infecciones invasivas y no invasivas ocasionadas por neumococos pili positivos en pacientes pediátricos atendidos durante el periodo 2006-2007
2. Establecer las diferencias en la presentación clínica de las infecciones ocasionadas por neumococos pili positivos vs pili negativo
3. Describir las diferencias existentes en la gravedad clínica de las infecciones ocasionadas por neumococos pili positivos vs pili negativo

II. MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO: Descriptivo, transversal y comparativo.

TAMAÑO DE LA MUESTRA: En la bibliografía no se cuenta con estudios realizados en humanos, los realizados previamente son en modelos murino, por lo tanto se considero una muestra por conveniencia con los casos diagnosticados de enfermedad invasiva y no invasiva ocasionados por neumococo durante el periodo enero 2006-diciembre 2007.

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

1.--Expedientes clínicos del Hospital Infantil de México Federico Gómez correspondientes a los pacientes que presentaron los aislamientos de *S. pneumoniae* mencionados en el punto número 2

2.-Cepas de *S. pneumoniae* aisladas de exudados faríngeos, abscesos cutáneos, broncoaspirado, líquido cefalorraquídeo (LCR), líquido pleural y hemocultivos, obtenidas del laboratorio de bacteriología intestinal del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el periodo enero de 2006 a diciembre de 2007.

- Cepas de *S.pneumoniae* invasivo: Cepas obtenidas del cultivo de sitios esteriles. Se incluyen hemocultivos, cultivos de líquidos pleural, peritoneal, cefalorraquídeo.
- Cepas de *S.pneumoniae* no invasivo: Cepas obtenidas de sitios considerados colonizados. Exudados faríngeos, broncoaspirados sin relevancia clínica..

METODOLOGIA:

1. Se identificaron aislamientos de *S. Pneumoniae* en el listado del departamento de bacteriología del Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo enero 2005 a diciembre de 2007.
2. Se analizaron los expedientes clínicos de los pacientes con aislamientos de *S. pneumoniae*, para identificar las características clínicas de las infecciones ocasionadas por ésta bacteria y determinar el cuadro clínico producido, se integraron dos grupos de pacientes (enfermedad invasiva y enfermedad no invasiva)

3. EXTRACCIÓN DE ADN

- 3.1. Se resembraron las cepas de *S. pneumoniae* mantenidas a -70°C en caja de gelosa sangre y se incubaron a 37°C con $5\%\text{CO}_2$ durante 18hrs. Se tomó una colonia aislada de la caja y se inocularon tubos con 5ml de caldo Todd-Hewitt con 0.5% de extracto de levadura. Los tubos fueron incubados en las mismas condiciones anteriores.
- 3.2. A partir del crecimiento bacteriano se extrajo el ADN de las cepas en estudio, para lo cual se utilizó el kit "Wizard Genomic DNA Purification" siguiendo las instrucciones del fabricante, brevemente
- 3.3. Se tomó 1 ml del cultivo bacteriano y se colocó en tubos eppendorf estériles y se centrifugó a 10000 rpm/ 3min. Se realizaron 2 lavados con 1 ml de TE 1X pH 8.0, centrifugando a 10000rpm/ 3min.
- 3.4. El pellet obtenido se trató con las enzimas lisozima (2mg/ml), proteinasa K (100 $\mu\text{g/ml}$) y Mutanolisina (5000U/ml) en un volumen final de 200 μl utilizando como diluyente TE 1X, durante 1h a 37°C este tratamiento permitió degradar la pared celular de las bacterias. Una vez terminando el tratamiento enzimático la muestra se centrifugo a 13000rpm/ 2min.

- 3.5. El pellet obtenido se resuspendió en 600µl de solución de lisis y se incubó a 80°C durante 5min, transcurrido ese tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente,
- 3.6. para eliminar el ARN se agregó 3µl de RNAsa homogeneizando la muestra por inversión, se incubó a 37°C/ 15min. La muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente.
- 3.7. Con el objetivo de precipitar las proteínas presentes en la muestra se colocaron 200µl de sol. de precipitación, homogeneizando fuertemente con ayuda de un Vortex la muestra por 20 seg. y se incubo en hielo 5 min. Se centrifugó a 13000rpm/ 3min, al sobrenadante obtenido se le adicionaron 600µl de isopropanol, homogeneizando la muestra suavemente con el objetivo de no dañar el ADN.
- 3.8. Para la obtención del ADN se procedió a centrifugar la muestra a 13000rpm/ 2 min. El sobrenadante se decantó y al botón de ADN obtenido se le adicionó 600µl de etanol al 70%, homogeneizando suavemente, la muestra se centrifugó a 13000/ 2 min para eliminar el etanol aspirándolo cuidadosamente, el tubo se dejó desecar por 15 min. El ADN obtenido se hidrato con 100µl de la solución de rehidratación a 4°C toda la noche.
- 3.9. Con el objetivo de visualizar la integridad del ADN se corrió un gel de agarosa al 1% en 35ml de TBE 0.5X.

4. -REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

- 4.1. Se cuantificó el ADN en espectrofotómetro a una longitud de 260nm.
- 4.2. Se procedió a realizar la mezcla de reacción para la técnica de PCR utilizando el kit “Master Mix” el cual contiene en concentraciones equimolares la enzima taq polimerasa, Mg²⁺ y dNTPs; en un volumen final de 25µl.

- 4.3. Los iniciadores utilizados se diseñaron a partir del banco de genes de la NCBI utilizando el programa "Primer Express" para el gen *rrgB* el cual codifica para la proteína principal del Pili en *S. pneumoniae*.
- 4.4. Como control positivo y negativo de la PCR se utilizaron 2 cepas aisladas de pacientes pediátricos del Hospital Infantil de México Federico Gómez cuya presencia o ausencia del gen *rrgB* se evaluó previamente con los iniciadores antes mencionados, por medio de la extracción de la banda obtenida en el gel de agarosa de la PCR y enviándola al Instituto de Fisiología Celular de la UNAM para su secuenciación. El control positivo fue la cepa 483H y el negativo la cepa 705H, ambas provenientes de Hemocultivo.
- 4.5. La técnica de PCR se llevó a cabo en un termociclador de la marca Techne, modelo TC-412 siguiendo el siguiente protocolo: Un ciclo de 95°C por 3min, 30 ciclos de 95°C/ 30segundos, 55°C/30segundos, 72°C/ 30segundos, finalmente un ciclo de 72°C / 7min.
- 4.6. Los productos obtenidos se corrieron en un gel de agarosa al 1% en TBE 0.5X a 90 volts por 45 min y se visualizaron en un transiluminador, revelando previamente con Bromuro de Etidio
5. Con los datos obtenidos, se realizó la descripción de las características de las infecciones ocasionadas por los neumococos pili positivo vs negativo.

CRITERIOS DE INCLUSION

- 1.-Pacientes entre 0 meses y 17 años 9 meses que hayan presentado aislamientos bacterianos de *S. pneumoniae* durante el periodo comprendido de enero de 2006 a diciembre de 2007.
- 2.- Expedientes completos del archivo clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez correspondientes a los pacientes que presentaron aislamientos de *S. pneumoniae* durante el periodo enero 2006 – diciembre 2007.

CRITERIOS DE EXCLUSION

- 1.-Expedientes clínicos con datos incompletos
- 2.-Cepas de aislamientos bacterianos en condiciones desfavorables para ser trabajadas.
- 3.-Aislamientos bacterianos que hayan sido obtenidos de cultivos post-mortem.
- 3.- Cultivos en los que se haya reportado más de un tipo bacteriano y que se haya considerado contaminación.

VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE: Presencia de Pili.

VARIABLE DEPENDIENTE: Infección invasiva.

VARIABLES CONFUSORAS

- A) Edad
- B) Sexo
- C) Estado inmune
- D) Patología previa

DEFINICION DE VARIABLES

1.- EDAD

Definición: tiempo que ha vivido una persona

Definición operacional: tiempo transcurrido del nacimiento a la fecha de presentación de la infección estudiada.

Tipo de variable: nominal

2.- SEXO

Definición: Condición orgánica masculino o femenino del ser humano.

Definición operacional: condición masculina o femenina del paciente

Tipo de variable: nominal (femenino/masculino).

3.- DIAGNOSTICO DE BASE

Definición: Definición de un proceso patológico con el que cursa un paciente.

Definición operacional: entidad patológica que fue previamente diagnosticada y que se encuentra en evolución.

Tipo de variable: nominal

4.- INFECCION COMUNITARIA

Definición operacional: infección adquirida fuera del medio hospitalario.

Tipo de variable: nominal

5.- INFECCION INTRAHOSPITALARIA

Definición: Infección contraída durante la estancia intrahospitalaria que no se había manifestado ni estaba en periodo de incubación en el momento de internamiento. Incluye las infecciones manifestadas 48 horas posteriores al egreso.

Definición operacional: Infección adquirida durante la hospitalización o que se diagnóstica 48 hrs posterior al egreso.

Tipo de variable: nominal

6.- CRITERIOS DE RESPUESTA INFLAMATORIA (RIS). Presencia de al menos dos de los siguiente cuatro criterios, unos de los cuales debe ser temperatura anormal o alteración en la cuenta leucocitaria.¹⁵

6.1 Alteración en la cuenta de leucocitos

Definición conceptual: Cuenta leucocitaria aumentada o disminuida para la edad (no secundaria a quimioterapia) o más del 10% de bandas.

Definición operacional: se utilizara la definición conceptual

Tipo de variable: nominal

6.2 Alteración en la frecuencia respiratoria

Definición conceptual: frecuencia respiratoria media $>2SD$ mayor a lo establecido para la edad o necesidad de ventilación mecánica en un proceso agudo no relacionado con alteraciones neuromusculares.

Definición operacional: se utilizara la definición conceptual

Tipo de variable: nominal

6.3 Alteraciones en la frecuencia cardiaca

Definición conceptual: Frecuencia cardiaca >2DS por arriba de la media para la edad en ausencia de estímulos externos, estímulos dolorosos, o en niños menores de 1 año bradicardia(frecuencia cardiaca por debajo del percentil 10 para la edad en ausencia de estímulos externos, dolorosos, beta bloqueadores o enfermedad cardiaca congénita)

Definición operacional: se utilizara la definición conceptual

Tipo de variable: nominal

6.4 Alteraciones de la temperatura

Definición conceptual: presencia de temperatura > 38.5 °C o <36 °C.

Definición operacional: se utilizara la definición conceptual

Tipo de variable: nominal

6.5 Sépsis

Definición conceptual: RIS en presencia o como resultado de infección probable.

Definición operacional: se utilizara la definición conceptual.

Tipo de variable: nominal

7. – INFECCIÓN INVASIVA: Aislamiento de *S.pneumoniae* de sitios normalmente estériles.

7.1 Neumonía

Definición: inflamación del parénquima pulmonar

Definición operacional: inflamación del parénquima pulmonar, caracterizado por iniciar de forma aguda, con fiebre, tos, taquipnea. Síndrome de condensación.

Tipo de variable: nominal

7.2 Meningitis bacteriana

Definición: inflamación de las meninges secundaria a proceso infeccioso.

Definición operacional: inflamación de las meninges, que se manifiesta por síntomas meníngeos y presenta alteraciones en el líquido cefalorraquídeo como pleocitosis con predominio de neutrofilos, hipogluorraquia, presencia de bacterias.

Tipo de variable: nominal

7.3 Peritonitis primaria

Definición: Inflamación del revestimiento peritoneal del abdomen debido a procesos infecciosos localizados fuera del abdomen y que llega a la cavidad peritoneal por vía hematológica, linfática o transmural.

Definición operacional: inflamación peritoneal, manifestada por fiebre, dolor abdominal, en un paciente nefropata, hepatopata o con ascitis, que presenta >250 leucocitos/mm³ en líquido peritoneal.

Tipo de variable: nominal

III. CRONOGRAMA

Actividad/ Tiempo	JULIO/ AGOSTO 2009	SEPT/OCT 20 09	NOV/DIC 20 09	ENE /FEB 20 10	MAR/ ABR 2010	MAY/ JUN 2010
Identificación de cepas de <i>S.penumoiniae</i> en libreta de laboratorio de bacteriología						
Revisión de expedientes						
Recuperación y resiembra de cepas						
Extracción de ADN Y realización de PCR						
Procesamiento de información						
Análisis y redacción						

IV. RESULTADOS.

ESTADISTICA DESCRIPTIVA

Durante el periodo de estudio, se identificaron 35 pacientes con diagnóstico de enfermedad por *S.pneumoniae*; de los cuales solo 28 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión. Se excluyeron siete pacientes; seis por no contar con expedientes o carecer de información referente a los cultivos, y uno por tratarse de un hemocultivo postmortem con presencia de *S.pneumoniae* y *E. coli*.

La muestra final se integro por 28 pacientes, 15 (53%) hombres y 13 (47%) mujeres. El 20% tenían menos de 2 años, 50% de los pacientes tenían entre 24-59 meses y 30% eran mayores de 5 años; presentándose el 70% de los eventos en menores de 5 años (Grafico 1). Presentaron algún tipo de inmunocompromiso 71%; de los cuales, el 25% cursaron con inmunodepresión secundaria a quimioterapia antineoplásica. Ninguno de los pacientes había recibido vacuna antineumococica.

Con fines de comparación se dividió a la muestra de la siguiente manera (Grafico 2)

- A. El 53 % de los pacientes (15) presentaron enfermedad invasiva con aislamiento bacteriano de *S. pneumoniae* de sitios estériles.
- B. El 47 % de los pacientes (13) presentaron aislamiento de cepas de *S. pneumoniae* de sitios considerados colonizados y sin presentar cuadro clínico asociado a este aislamiento.

A. PACIENTES CON ENFERMEDAD NO INVASIVA.

Este grupo se integro por 13 pacientes, 53% mujeres (7), y 47% hombres(6). El 30 % tenia menos de 24 meses, 30% tenia entre 24 y 59 meses y 40% eran mayores de 5 años, los pacientes menores de cinco representaron el 60 %. Un paciente (7.6%) presentaba inmunocompromiso secundario a quimioterapia

mieloablative por padecimiento oncológico de base, el resto se encontraba sin ninguna alteración inmunológica. Los sitios de aislamientos de *S. pneumoniae* fueron: cinco broncoaspirados los cuales no tuvieron relevancia clínica ni asociación con el diagnóstico, cuatro exudados faríngeos y cuatro provenientes de piel y tejidos blandos. Ningún paciente presentó datos de RIS, ni requirió hospitalización. El 100% de los aislamientos bacterianos de los pacientes de este grupo resultaron negativos para la prueba de PCR para el gen *rrgB*, por lo tanto se consideran cepas *pili* negativo.

B. PACIENTES CON ENFERMEDAD INVASIVA

El grupo se integró por quince pacientes, 40% mujeres (6) y 60% hombres (9). (Tabla 1). El 60% (9) tenía entre los 24 y 59 meses, 26% (4) eran mayores de cinco años y 13% (2) eran menores de dos años, los pacientes menores de cinco años representaron el 73%. (Gráfico 3)

Estado inmunológico: El 53% (8) de los pacientes se encontraban inmunológicamente competentes y el 47% (7) con inmunosupresión secundaria; de los cuales el 71% era secundaria a quimioterapia mieloablative y el 29% a terapia con esteroide a dosis plena para manejo de síndrome nefrótico (Gráfico 4)

Diagnóstico de ingreso: El diagnóstico principal al ingreso fue neumonía con 53% (8), cuatro de ellos adquirida en la comunidad, 2 con neumonía complicada y 2 con neumonía nosocomial temprana. Dos pacientes (13%) presentaron peritonitis primaria, dos pacientes presentaron sepsis con aislamiento de *S. pneumoniae* en sangre, un paciente con infección asociada a catéter puerto, otro con absceso de muslo y el último choque hipovolémico secundario a sangrado de tubo digestivo. (Gráfico 5)

Presencia de *pili*: De los 15 pacientes con enfermedad invasiva, cinco (33%) fueron positivos para el gen *rrgB*, que codifica para la proteína principal del *pili* (Gráfico 6).

Los sitios de aislamiento en los pacientes con enfermedad invasiva con cepas *pili* positivo fueron: tres aislamientos de hemocultivos, un aislamiento de LCR, un

aislamiento de líquido pleural y un aislamiento de líquido peritoneal. Dos de estos pacientes presentaron aislamientos bacterianos en dos sitios estériles diferentes, considerándose el diagnóstico de sepsis por neumococo (Tabla 2).

FACTORES DE RIESGO PARA PRESENTAR ENFERMEDAD INVASIVA.

Se comparan los pacientes que presentaron pili vs los que no presentaron pili:

1. Factores de alto riesgo identificados:

- a. Edad menor de 24 meses. En este grupo se encuentran dos pacientes que representan el 13 %. Un paciente con pili negativo (6%) y un paciente con pili positivo (6%).

2. Probables Factores de alto riesgo :

- a. Terapia con inmunosupresores: Siete pacientes (46%) presentaban inmunosupresión, cinco de ellos fueron negativos para el gen *rrgB* (33%) y dos pacientes positivos para el gen (13%).
- b. Cardiopatía crónica: Solamente se encontró un paciente con cardiopatía congénita compleja y con PCR positivo para el gen *rrgB*.
- c. Fractura de cráneo: Una paciente con antecedente de con aislamiento de *S. pneumoniae* en hemocultivo y positivo para pili.
- d. Síndrome nefrótico: En estos pacientes se encuentran dos pacientes, uno con aislamiento positivo para pili y uno con aislamiento negativo para pili.

3. Factores de riesgo moderado:

- a. Edad entre 24 y 35 meses: Tres pacientes con aislamientos de *S. pneumoniae* negativos para pili.

Respuesta inflamatoria sistémica. Estos datos fueron evaluados según el Consenso Internacional de Sepsis en Pediatría¹⁵ (Tabla 3). Los cinco pacientes con aislamientos positivos para pili presentaron datos de RIS (100%), de los

restantes 10 pacientes con pili negativo, seis presentaron datos de RIS ((60%)
(Grafico 7)

choque septico: Tres de cinco pacientes con aislamientos de *S: pneumoniae* positivos para pili (60%) presentaron choque vs uno de 10 pacientes con aislamiento pili negativo (10%) que presento choque septico. (Grafico 8)

V. DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, para la población estudiada los pacientes menores de cinco años representaron el 75% (20) de la población. El grupo etareo más numeroso fue el de 24-59 meses con 50% (14) del total de la muestra, solamente el 21% (7) de los pacientes eran menores de 24 meses y de estos el 7% (2) presentaron enfermedad invasiva.

La frecuencia de enfermedad invasiva por neumococo en la población estudiada fue del 53% (15). Once de estos 15 pacientes eran menores de cinco años, y dos de los 15 pacientes eran menores de dos años, lo que corresponde al 7%. Este último resultado contrasta con lo reportado por otros autores que reportan una frecuencia de enfermedad invasiva en menores de dos años de más del 60%.

En los pacientes sin enfermedad invasiva los aislamientos de neumococos provenían de sitios no estériles, por lo tanto se consideraron como colonizantes, los dos sitios más frecuentes fueron exudados faríngeos (4) y broncoaspirados (5) que no tuvieron relevancia clínica. Es de suma importancia mencionar que el 100% de estos aislamientos de neumococos no presentó pili.

El 53% (8) de los pacientes con enfermedad invasiva presentó neumonía, el 13% (2) peritonitis primaria y el 13% (2) sepsis por neumococo. La bibliografía refiere que la manifestación más común de enfermedad invasiva es la bacteriemia, lo cual en nuestro grupo de estudio solo se presentó en el 13%.

La inmunosupresión secundaria a medicamentos, principalmente quimioterapia, fue el mayor factor de riesgo para enfermedad invasiva, debemos tener en consideración que en Hospital Infantil de México el 60% de los ingresos es de origen oncológico por lo cual es importante que este tipo de pacientes en nuestro hospital sean beneficiados con la vacuna contra neumococo.

En nuestro estudio identificamos por medio de PCR el gen *rrgB*, el cual codifica para la proteína principal del pili del *S. pneumoniae*, encontrándolo en el grupo de infecciones invasivas en el 33% de los aislamientos y en ningún aislamiento de las enfermedades no invasivas, hallazgos similares a lo reportado por Aguiar y

Serrano en 2008, quienes identificaron la isleta rlrA que codifica también para la estructura del pili, la cual se encontró en 27% de su población¹³. La muestra estudiada es pequeña, lo cual es una limitante para poder hacer correlación estadística de la presencia del pili con el desarrollo de infecciones invasivas, aun así es evidente que ninguna cepa de neumococo proveniente de sitios considerados colonizados presentaron pili.

En nuestro estudio valoramos clínicamente la respuesta inflamatoria sistémica a través de los criterios del Consenso Internacional de Sepsis en pediatría de 2005¹⁵, con los datos de alteraciones en la temperatura, alteraciones en la cuenta leucocitaria, alteraciones en la frecuencia cardíaca y en la frecuencia respiratoria encontramos que el 100% de los pacientes con aislamiento de *S.pneumoniae* pili positivos presentaron datos de respuesta inflamatoria sistémica, en comparación con los pacientes que también presentaron enfermedad sistémica pero con aislamiento de neumococo pili negativo en los cuales solo el 60% presentó datos de RIS, es importante señalar que el 100% de los pacientes sin enfermedad invasiva no presentó RIS. Como ya habíamos mencionado, el *S. pneumoniae* presenta múltiples factores de virulencia, siendo el principal la capsula, por lo tanto no podemos asegurar que esta diferencia en cuanto a presencia de RIS sea atribuible 100% a la presencia o ausencia de pili, aun así y aunque la muestra es pequeña es evidente que el 100% de los pacientes pili positivo presentó respuesta inflamatoria sistémica y que 60% de estos pacientes presentó choque séptico.

El 100% de los pacientes no había sido vacunado contra neumococo, ya que la población estudiada corresponde a la era pre introducción de la vacunación universal contra neumococo en niños.

VI. CONCLUSIONES

1. En este grupo de estudio el 100% de los aislamientos de *S. pneumoniae* pili positivo provocaron enfermedad invasiva con datos de Respuesta inflamatoria sistémica y el 60% de estos pacientes evolucionaron a choque séptico.
2. Los aislamientos provenientes de pacientes sin enfermedad invasiva no presentaron pili y los pacientes no desarrollaron datos de RIS.
3. Es de suma importancia serotipificar las cepas de *S. pneumoniae* para correlacionar la presencia de pili y el desarrollo de enfermedad invasiva, lo cual esta fuera del alcance de este trabajo.
4. Este es el primer estudio que describe las características clínicas de las infecciones ocasionadas por *S. pneumoniae* pili positivo en pacientes pediátricos y los compara con las infecciones producidas por neumococos pili negativo; sin embargo por el tamaño de la muestra es necesario realizar un estudio que nos permita obtener una muestra significativa, homogénea para poder determinar la asociación entre la presencia de pilis con enfermedad invasiva y gravedad.

I. TABLAS Y GRAFICAS

TABLA 1. Lista de pacientes con infecciones invasivas ocasionadas por *S. pneumoniae* y características clínicas, en el periodo comprendido de enero de 2005 a diciembre de 2007 en el HIMFG.

NO.	EDAD ¹	SEXO ²	ESTADO INMUNE ³	DIAGNOSTICO DE BASE	DIAGNOSTICO DE INGRESO
1	52 m	F	2	Sano	Neumonía adquirida en la comunidad
2	10años	F	1	Vasculitis en estudio	Sepsis por Neumococo
3	48 m	M	1	Síndrome nefrótico	Peritonitis primaria por Neumococo
4	23m	M	2	Sano	Meningitis por Neumococo y Neumonía complicada con derrame paraneumonico por Neumococo
5	10a 5m	M	2	Síndrome de Möebius, Discordancia auriculoventricular y ventriculoarterial CIV	Choque mixto (cardiogénico y séptico)
6	36m	M	1	Leucemia Mieloide Agua M5	Neumonía nosocomio temprana no asociada a ventilador/ choque séptico
7	24m	M	2	sano	Neumonía complicada con empiema por Neumococo
8	4 años	M	2	Angioma venoso frontal izquierdo, paquigiria frontoparietal derecha Crisis convulsivas	Neumonía adquirida en la comunidad
9	3 a 8m	M	1	Leucemia Linfoblastica Aguda L1	Infección asociada a catéter puerto por Neumococo
10	35 meses	F	1	Histiocitosis de células de Langerhans	Neumonía adquirida en la comunidad
11	4 años 5 meses	M	1	Síndrome nefrótico	Peritonitis primaria Celulitis lumbar derecha
12	11 años	M	2	Sano	Absceso en muslo derecho
13	9ª	F	1	Leucemia linfoblastica aguda L2	Neumonía nosocomial temprana
14	14 meses	F	2	Epilepsia parcial sintomática, hipoplasia del cuerpo caloso, microcefalia	Neumonía adquirida en la comunidad
15	3a 5m	F	12	Atresia de vías biliares. Varices esofágicas.	Sangrado de tubo digestivo alto. Choque hipovolemico Muerte

¹Edad: referida en meses en pacientes menores de cinco años (59 meses) y referida en pacientes mayores de 5 años.

²Sexo: F: femenino, M: masculino

³Estado inmune: 1: inmunocomprometido. 2: inmunocompetente.

TABLA 2: Lista de pacientes con infecciones invasivas ocasionadas por *S. pneumoniae* en el periodo comprendió de enero de 2005 a diciembre de 2007. Tipo de aislamiento y resultados para prueba de PCR para el gen *rrgB*.

NO.	HEMO ¹	BRONQ ²	L. PER ³	L PLE ⁴	LCR ⁵	OTROS ⁶	Gen <i>rrgB</i> ⁷
1	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	NO	+
2	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	NO	+/
3	POSITIVO	NO	POSITIVO	NO	NO	NO	+
4	NO	NO	NO	POSITIVO	POSITIVO	NO	+
5	NO	601D	NO	NO	NO	NO	+
6	POSITIVO	894	NO	NO	NO	NO	-
7	NO	NO	NO	POSITIVO	NO	NO	-
8	NO	878 D	NO	NO	NO	NO	-
9	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	NO	-
10	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	NO	-
11	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	NO	-
12	NO	NO	NO	NO	NO	POSITIVO	-
13	NO	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	-
14	NO	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	-
15	POSITIVO	NO	NO	NO	NO	NO	-

¹HEMO: hemocultivo periferico

²BRONQ. Aspirado bronquial, obtenido por aspiración directa de canula endotraqueal

³L.PER Líquido peritoneal

⁴L:PLE. Líquido pleural

⁵LCR. Líquido cefalorraquídeo

⁶OTROS. Aspirado de absceso muscular

⁷Gen *rrgB*. resultado de PCR para gen *rrgB*. (+)positivo. (-) negativo

TABLA 3: Datos de Respuesta Inflamatoria sitemica en pacientes con infección invasiva ocasionada por *S. pneumoniae*.

PACIENTE	PILI ¹	Leucocitosis ²	Temp ³	FR ⁴	FC ⁵	TA ⁶
1	+	si	si	si	si	si
2	+	si	si	si	si	no
3	+	si	si	no	no	no
4	+	si	si	si	si	no
5	+	si	si	si	si	si
6	-	si	si	si	si	si
7	-	si	si	si	si	no
8	-	SI	SI	si	SI	no
9	-	no	no	no	no	no
10	-	no	si	si	si	no
11	-	no	si	no	no	no
12	-	si	si	no	no	no
13	-	si	si	si	si	si
14	-	no	no	no	no	no
15	-	no	no	no	no	no

¹PILI:Resultado de PCR para gen rrgB. (+)positivo. (-) negativo

²Leucocitosis: SI: Cuenta leucocitaria aumentada o disminuida para la edad (no secundaria a quimioterapia) o más del 10% de bandas. NO: sin alteraciones en la cuenta leucocitaria.

³Temp: SI: presencia de temperatura > 38.5 °C o <36 °C. NO: sin alteraciones en la temperatura.

⁴FR: SI:frecuencia respiratoria media >2SD mayor a lo establecido para la edad o necesidad de ventilación mecánica en un proceso agudo no relacionado con alteraciones neuromusculares. NO: sin alteraciones en la frecuencia respiratoria.

⁵FC: SI: Frecuencia cardiaca >2SD por arriba de la media para la edad en ausencia de estímulos externos, estímulos dolorosos, o en niños menores de 1 año bradicardia(frecuencia cardiaca por debajo del percentil 10 para la edad en ausencia de estímulos externos, dolorosos, beta bloqueadores o enfermedad cardiaca congénita). NO: sin alteraciones en la Frecuencia cardiaca.

⁶TA: Disminución de la Tensión arterial <percentil 5 para la edad o tensión sistólica <2 SD para la edad a pesar de la administración de bolo ≥ 40 ml/kg en una hora.

Grafico 1: Distribución por edades de los pacientes incluidos en el estudio

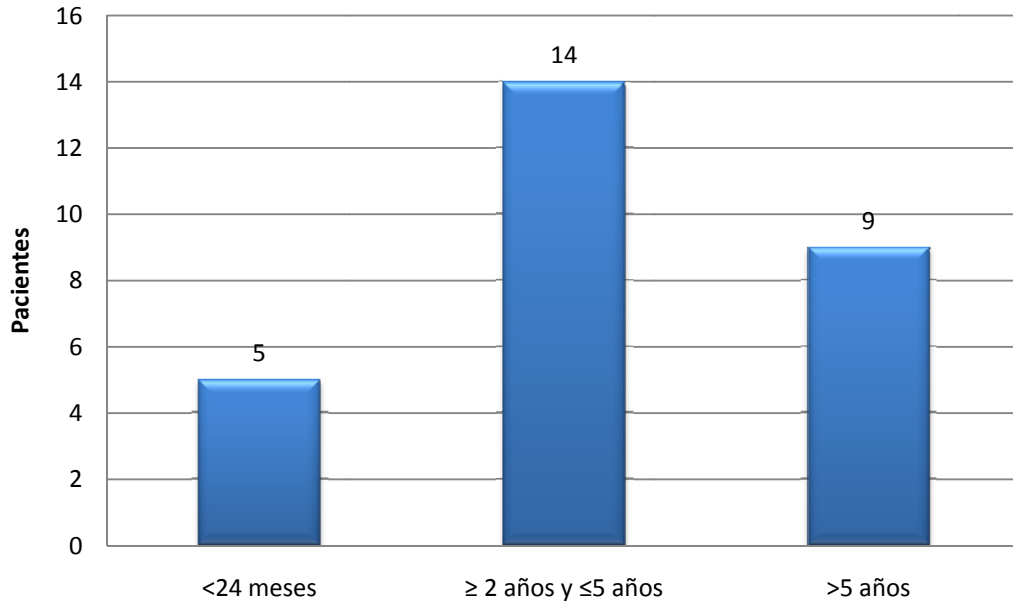


Grafico 2: Distribución de los pacientes según enfermedad invasiva y no invasiva

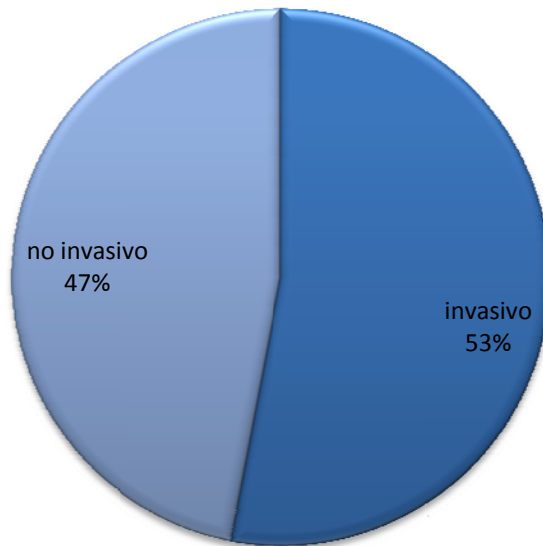


Grafico 3: Distribución de pacientes por grupo de edad de riesgo y presencia de Pili

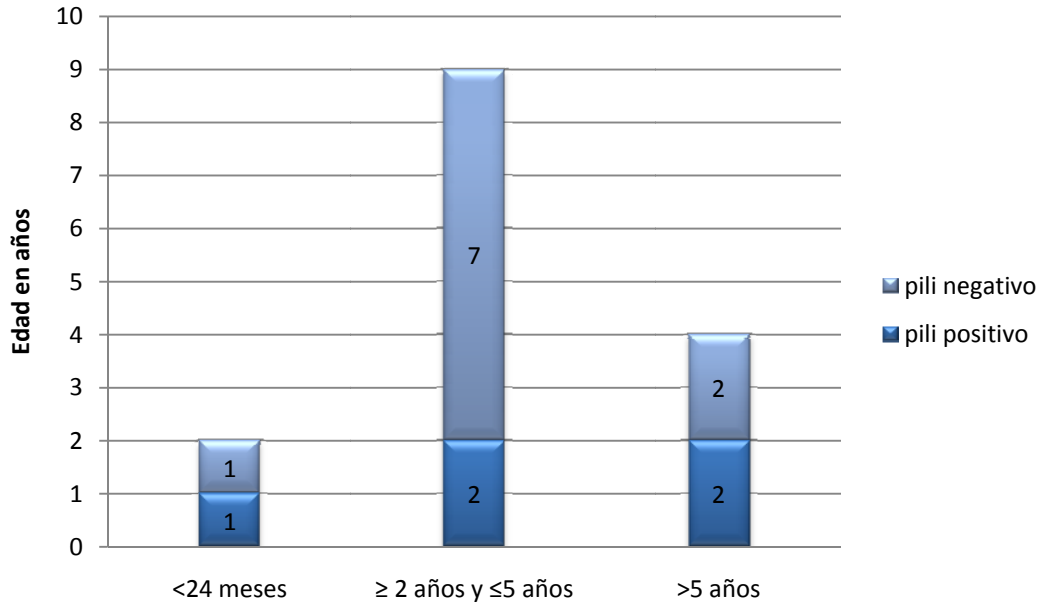


Grafico 4: Distribución de pacientes con enfermedad invasiva y estado inmune

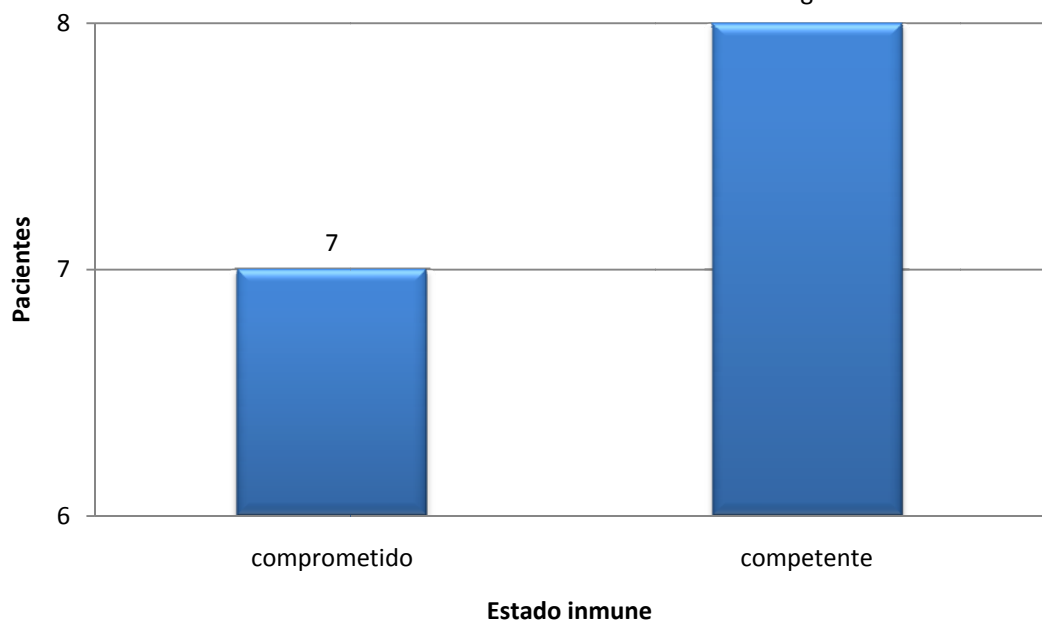


Grafico 5: Distribución de pacientes con enfermedad invasiva según diagnósticos de ingreso

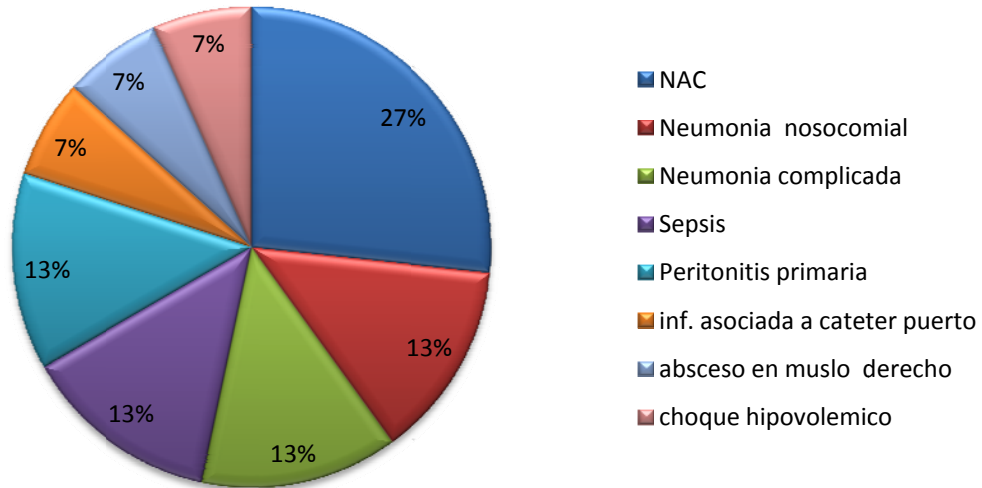


Grafico 6: Distribución de pacientes con enfermedad invasiva por grupo etareo y presencia de Pili

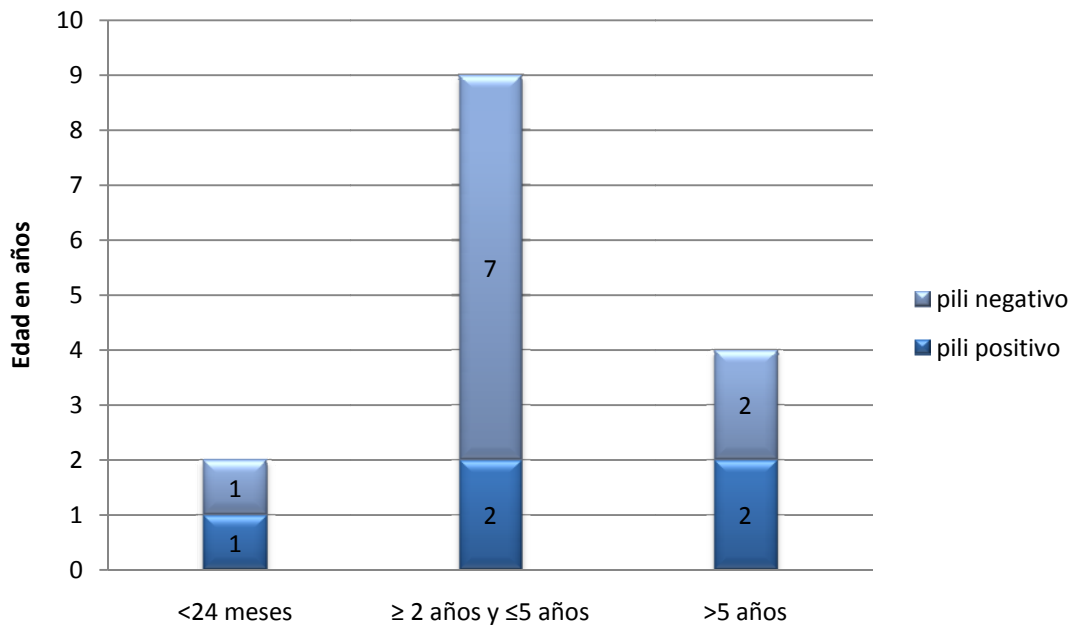


Grafico 7: Distribución de pacientes con enfermedad invasiva y su relación con datos de RIS y presencia de Pili

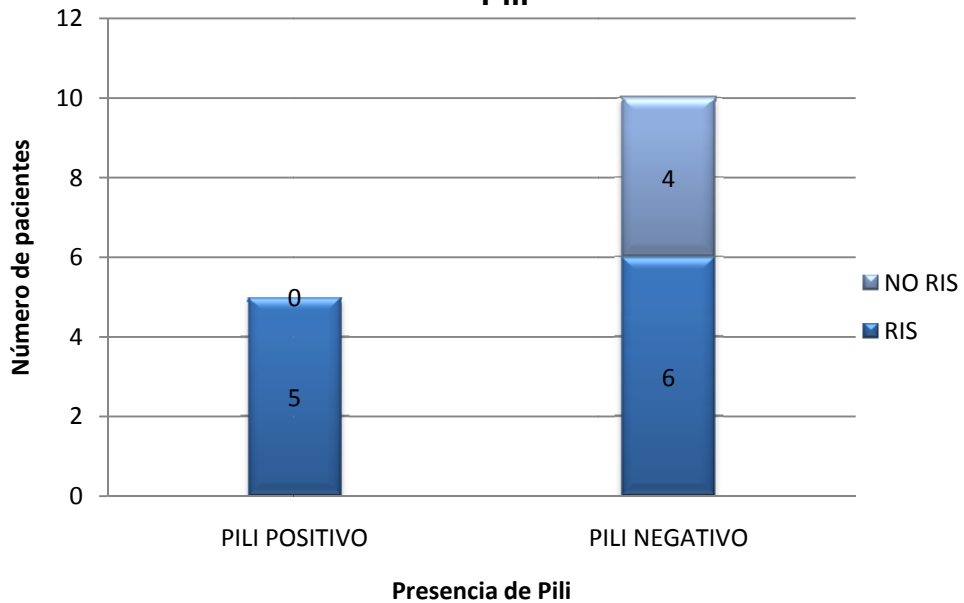
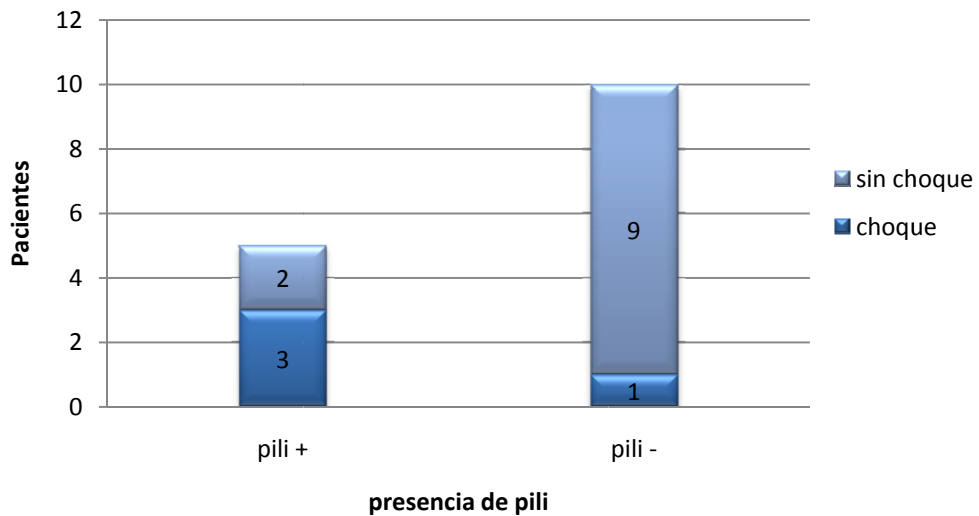


Grafico 8: Distribución de pacientes con enfermedad invasiva comparados con la presencia de choque y pili



VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Alter SJ. Pneumococcal Infections. *Pediatrics in Review*. 2009;30(5):155-164.
2. Bridy-Pappas AE, Margolis MB, Center KJ, Isaacman DJ. Schema-instance. *Streptococcus pneumoniae: Description of the Pathogen, Disease Epidemiology, Treatment, and Prevention*. *Pharmacotherapy*. 2005;25(9):1193-1212.
3. Myers C, Gervaix A. *Streptococcus pneumoniae* bacteraemia in children. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007;30:24-28.
4. Pickering L, American Academy of Pediatrics. *Red book 2009 report of the Committee on Infectious Diseases*. Elk Grove Village, IL :: American Academy of Pediatrics,; 2009.
5. Rodgers GL, Mercado G, Bierschwale H, Paradiso P. Comment on "Serotypes and susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* strains isolated from children in Mexico". *Salud Publica Mex*. 2009;51(1):4.
6. Espinosa-de Los Monteros LE, Jiménez-Rojas V, Aguilar-Ituarte F, et al. *Streptococcus pneumoniae* isolates in healthy children attending day-care centers in 12 states in Mexico. *Salud Publica Mex*. 2007;49(4):249-255.
7. Hjuler T, Wohlfahrt J, Staum Kaltoft M, et al. Risks of Invasive Pneumococcal Disease in Children With Underlying Chronic Diseases. *Pediatrics*. 2008;122(1):e26-e32.
8. Barocchi MA. A pneumococcal pilus influences virulence and host inflammatory responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(8):2857-2862.
9. Telford JL, Barocchi MA, Margarit I, Rappuoli R, Grandi G. Pili in Gram-positive pathogens. *Nat Rev Micro*. 2006;4(7):509-519.
10. Bergmann S. Versatility of pneumococcal surface proteins. *Microbiology*. 2006;152(2):295-303.
11. Bergmann S. Versatility of pneumococcal surface proteins. *Microbiology*. 2006;152(2):295-303.
12. Ton-That H, Marraffini LA, Schneewind O. Sortases and pilin elements involved in pilus assembly of *Corynebacterium diphtheriae*. *Mol. Microbiol*. 2004;53(1):251-261.

13. Aguiar SI, Serrano I, Pinto FR, Melo-Cristino J, Ramirez M. The presence of the pilus locus is a clonal property among pneumococcal invasive isolates. *BMC Microbiol.* 2008;8(1):41.

14. Gunasekera H, Morris PS, McIntyre P, Craig JC. Management of children with otitis media: a summary of evidence from recent systematic reviews. *J Paediatr Child Health.* 2009;45(10):554-562; quiz 562-563.

15. Goldstein B, Giroir B, Randolph A. International pediatric sepsis consensus conference: Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics*. *Pediatric Critical Care Medicine.* 2005;6(1):2-8.

