



**Universidad
Zaragoza**

Trabajo Fin de Máster

Serotipos y sensibilidad antibiótica de *Streptococcus pneumoniae* aislados de tracto respiratorio y enfermedad invasiva durante los años 2011 y 2013 en el Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.

Autor

Maria Alejandra Vasquez Martinez

Directores

Francisco Javier Castillo García
Antonio Rezusta López

Facultad de Medicina / Master de Salud Pública

INDICE

INTRODUCCIÓN	3
OBJETIVOS	10
METODOLOGÍA	11
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	50
ANEXO I	51
BIBLIOGRAFÍA	59

- **INTRODUCCIÓN**

Antecedentes

S. pneumoniae es un diplococo grampositivo que causa enfermedad, ya que es capaz de evitar la fagocitosis y destruir las células fagocíticas^{1,2}.

En un huésped sin experiencia inmunológica previa, en ausencia de anticuerpo anticapsular, los neumococos son ingeridos y destruidos pobremente por los leucocitos polimorfos nucleares (PMNs) y macrófagos³.

Los polisacáridos de la cápsula son el principal factor de virulencia⁴. La cápsula juega un papel central en evitar la fagocitosis, los mecanismos que pueden contribuir incluyen la ausencia de receptores en las células fagocíticas que reconocen el polisacárido capsular, la presencia de fuerzas electroquímicas que repelen las células fagocíticas, el enmascaramiento de los constituyentes de la pared celular frente a los anticuerpos, C3b y la inactivación del complemento⁵.

Una estrecha relación ha sido observada entre la cantidad absoluta de cápsula producida y la virulencia de las cepas de *S.pneumoniae*. También cuenta con factores de virulencia no capsulares como la neumolisina, las proteínas de superficie, y autolisina^{6,7}.

Se han identificado noventa y tres serotipos de *S. pneumoniae* sobre la base de diferencias antigénica en sus polisacáridos capsulares^{8,9}.

Entre los genes que codifican la producción de cápsula, algunos son específicos para polisacáridos individuales, mientras que otros se conservan entre casi todos los *S.pneumoniae* e incluso en otros *Streptococcus*.

Los anticuerpos son la base para identificar los tipos de *S.pneumoniae*, reciben el nombre de serotipos. En el sistema de numeración americano, los serotipos están numerados del 1 al 93 en el orden en que fueron identificados. El sistema Danés como sistema de numeración más ampliamente aceptada distingue 46 serogrupos que contienen serotipos antigénicamente relacionados⁴.

En la actualidad conocer los serotipos circulantes es de gran interés desde el punto de vista epidemiológico y de salud pública, ya que los serotipos circulantes pueden estar presentes en portadores sanos, o en pacientes con enfermedad invasiva y permiten valorar la cobertura vacunal¹⁰.

S. pneumoniae se encuentra, de forma habitual, en las vías respiratorias superiores de personas sanas, es un colonizador de nasofaringe, aislándose en adultos (5-10%) y niños sanos (20-40%)^{11,12}. Sin embargo, cuando los mecanismos de defensa local fallan, es una causa importante de morbilidad y mortalidad que a nivel mundial es causa principal causa de neumonía de origen bacteriano en la comunidad, produciendo además otras patologías del tracto respiratorio^{13,14}, especialmente otitis media, sinusitis, traqueitis, bronquitis y exacerbación de EPOC y enfermedad invasiva¹⁵ que se puede manifestar como sepsis, meningitis, osteomielitis, artritis séptica, peritonitis, celulitis y endocarditis. La incidencia de enfermedad neumocócica invasiva (ENI) en países industrializados es muy variable según la región geográfica, con cifras de 8 a 34 casos por 100.000 habitantes¹⁶. La letalidad en Europa en 2006 osciló según países entre 6,5 y 20%¹⁷. Ésta suele ser mayor en las formas clínicas más graves (sepsis y meningitis), en los pacientes con patología subyacente y en los grupos de mayor edad¹⁸.

La vigilancia epidemiológica suele centrarse en las denominadas formas invasivas (producidas por diseminación hematógena) que son las más graves y su diagnóstico microbiológico se basa en la identificación del patógeno en un lugar normalmente estéril. Las personas que tienen una menor capacidad para formar anticuerpos siguen siendo susceptibles siempre, lo que explica la alta tasa de neumonía en los pacientes con mieloma múltiple, o pacientes con (SIDA) y otras inmunodepresiones¹⁹.

Según la OMS aproximadamente 20 serotipos son responsables de más del 70% de los casos de enfermedad invasiva en todos los grupos de edad¹⁶.

Existen dos tipos de vacuna disponibles contra el *S.pneumoniae*:

1). Vacuna posalisacárida 23 valente: esta vacuna disponible desde 1983 contiene los serotipos incluidos en la tabla 1. Tiene una cobertura de un 90%

de las infecciones invasivas en los países en desarrollo. Las vacunas de polisacáridos no están recomendadas en niños menores de 2 años por su baja inmunogenicidad y el rápido descenso de anticuerpos en pocos años. Actúan poco sobre el estado de portador y no generan respuesta de memoria.

Está indicada en personas mayores de 65 años, inmunodeprimidos, asplenia, trasplantados, enfermedades crónicas cardiopulmonares, renales, hepáticas, diabetes y enfermedades del colágeno⁴³.

Están disponibles 2 vacunas 23 valente: Pneumovax (Merck); Pneumo 23 (Aventis Pasteur).

La dosis de refuerzo únicamente se aplica por factores de alto riesgo: a partir de los tres años de la dosis inicial en niños de 2-10 años y a partir de los 5 años en adultos de alto riesgo¹⁸.

2). Vacuna heptavalente (PCV 7): Es una vacuna polisacárido conjugada con proteínas que induce una respuesta inmunitaria primaria en los niños menores de 2 años, y los protege contra la enfermedad neumocócica invasiva. Está disponible desde 2000 en más de 70 países. Contiene los serotipos incluidos en la tabla 1. Los serotipos incluidos en esta vacuna cubren entre el 65-80% de los serotipos responsables de enfermedad invasiva en países industrializados^{20, 21, 23}.

La vacuna 13 valente: Prevenar 13 contiene los serotipos incluidos en la tabla 1²².

El uso generalizado de la vacuna conjugada ha reducido la incidencia de la enfermedad neumocócica en todas las edades. Un efecto secundario no deseado de la vacunación generalizada, ha sido la aparición de cepas de reemplazo²².

En la Comunidad de Madrid desde 2005 se incluyó esta vacuna antineumocócica en las recomendaciones de vacunación de adultos mayores de 59 años, administrándose junto a la vacuna antigripal. Previamente se había reforzado su administración a las personas mayores institucionalizadas. Desde el año 2001 se dispone también de una vacuna neumocócica conjugada heptavalente (VCN_7), indicada desde los 2 meses hasta los 5 años de edad²¹.

En España a comienzos de la década pasada se inició una nueva etapa en la prevención de la ENI con la comercialización de la primera vacuna conjugada heptavalente (PCV 7) para niños menores de 2 años.

La década actual ha comenzado también con novedades:

- 1) En 2010 se aprobaron dos nuevas vacunas conjugadas: VNC10 y la VNC13.
- 2) La vacuna 13-valente ha sustituido a su predecesora VNC7, con indicación para: enfermedad invasiva, neumonía y otitis media en lactantes y niños desde 6 semanas hasta 5 años de edad.
- 3) En Noviembre de 2011 Prevenar 13 (VNC13) recibió la autorización de la Comisión Europea para la ampliación de su indicación a los adultos de 50 o más años.

A la vista de la efectividad de la VNC7 en niños, es presumible que la vacunación de los adultos con VNC13 reduzca significativamente la carga de enfermedad, donde además la tasa de letalidad es más elevada ²².

En la actualidad en nuestro medio se dispone de dos tipos de vacunas frente a neumococo. Una vacuna de polisacáridos capsulares de los 23 serotipos (VPN_23) que causan infección neumocócica con mayor frecuencia, que está recomendada para mayores de 2 años de edad con alto riesgo de enfermedad neumocócica. En España las autoridades sanitarias recomiendan esta vacuna en grupos de riesgo, en los que se incluyen niños inmunocompetentes con riesgo de enfermedad neumocócica o sus complicaciones debido a enfermedades crónicas, niños inmunodeprimidos y niños con infección por VIH¹⁰.

En nuestro país se ha realizado una vacunación universal en menores de 2 años sólo en la Comunidad de Madrid, que incorporó la vacuna VCN7 (la otra vacuna disponible) a su calendario en 2006. En el resto del país, únicamente se ha vacunado en el ámbito privado, y es desigual entre las distintas comunidades autónomas¹⁸.

A pesar de estas limitaciones, los serotipos incluidos en VNC7 han disminuido significativamente durante la pasada década en todos los grupos de edad aunque no se ha conseguido la eliminación total de los siete serotipos, como ha ocurrido en la Comunidad de Madrid y en los países con vacunación rutinaria (Orden 1869/2006, de 10 de octubre). Además, para reforzar la vigilancia de la enfermedad se ha incluido toda la enfermedad neumocócica invasora como EDO (Orden 74/2007, de 22 de enero) en febrero de 2007.

En Aragón la información epidemiológica de *S. pneumoniae* se obtiene a través de dos fuentes:

_ La patología invasiva manifestada como meningitis recogida en el sistema de enfermedades de declaración obligatoria (EDO) de manera individualizada automatizada desde el 2007.

_ El Sistema de Información Microbiológica (SIM) notifica *S.pneumoniae* identificados según los criterios diagnósticos establecidos de aislamiento, detección de genoma, detección de antígeno en unas muestras determinadas que son: Sangre, LCR, líquido articular, líquido pleural, biopsia pulmonar y líquido pericárdico.

Durante los casi dos años en los que se ha estado utilizando VNC13 se ha conseguido una reducción del 50% en las tasas de incidencia de ENI en menores de 2 años, lo que supone una muestra clara de su efectividad²².

Aunque desconocemos la cobertura vacunal de VNC13 y VPN_23 a nivel nacional, los datos del Instituto Carlos III también demuestran una reducción de la prevalencia de los serotipos 1, 7F y 19A en menores de 5 años en los dos últimos años.

Tabla 1: Serotipos incluidos en las vacunas:

Vacuna	Serotipos incluidos
Conjugada heptavalente (VCN_7)	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F
Polisacárida 23-valente (VPN_23)	Los anteriores más: 1, 2, 3, 5, 7F, 8, 9N, 10A, 11A, 12F, 15B, 17F, 19A, 20, 22F y 33F
Conjugada decavalente (VCN_10)	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (ya incluidos en la heptavalente), más 1, 5 y 7F
Conjugada trecevalente (VCN_13)	4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F (ya incluidos en la heptavalente), más 1, 3, 5, 6A, 7F y 19A

Enfermedad neumocócica en niños

La vacuna antineumocócica VNC7 se recomienda para niños menores de 2 años²³. Desde que se inició su uso en el año 2000, ha mostrado resultados alentadores. En Estados Unidos se observaron buenos resultados en niños²⁴; en adultos se reportó un considerable efecto protector indirecto, el cual fue mayor en periodos tempranos⁷¹, con una reducción sostenida en los últimos años²⁵. Por lo que numerosos países han incluido la VNC7 como parte de la vacunación de rutina en niños⁷². Desde entonces se observó un reemplazo de los serotipos^{26, 27}, la prevención de la enfermedad debida a la vacunación disminuyó, y la inclusión de nuevos serotipos en las nuevas VNCs fue necesaria. De hecho dos nuevas vacunas conjugadas (VNC10 y VNC13) obtuvieron su licencia en 2010 para sustituir a la antigua VNC7²⁸.

Enfermedad neumocócica en mayores de 65 años

La verdadera incidencia de infecciones neumocócicas en general es desconocida, porque la mayoría de las infecciones neumocócicas no invasivas no son diagnosticadas. Sin embargo, se ha estimado que aproximadamente 1,6 millones de personas mueren a causa de infecciones neumocócicas cada año en todo el mundo⁷³. En los países europeos diferentes estudios muestran que las incidencias de ENI han variado ampliamente en diferentes estudios, oscilando de 0,4 a 20 casos por cada 100.000 habitantes para todas las edades-año. Entre las poblaciones de edad avanzada, las incidencias de ENI variaron de 20 a 76 casos por cada 100.000 personas-año²⁹.

Estas diferencias pueden reflejar en gran medida las diferentes tasas de obtención de hemocultivos en pacientes con neumonía, así como diferencias metodológicas, geográficas y epidemiológicas.

Por el momento, la vacunación antineumocócica (junto con la vacunación contra la gripe) y dejar de fumar son las únicas medidas de salud pública para reducir la incidencia de enfermedad neumocócica. En la actualidad, están disponibles dos tipos de vacunas contra el neumococo: una vacuna polisacárida neumocócica (VNP23) para adultos y tres tipos de vacunas antineumocócicas conjugadas (VNCs) para su uso en niños.

Las posibles indicaciones para el uso de VNC en los adultos se encuentran bajo evaluación por los órganos reguladores de salud pública³⁰. Al contrario que con la VNP23 (autorizada en 1983) que había mostrado un impacto limitado sobre la prevención de enfermedad neumocócica³¹, la introducción de la VNC7 (autorizada en el año 2000 para su uso en niños) mostró resultados muy alentadores³². La VNC7 además de un efecto importante en los niños, presentaba un considerable efecto protector indirecto tanto en adultos como en ancianos en el periodo inicial después de su autorización²⁴. Posteriormente apareció el reemplazo de serotipos y serotipos emergentes³³, por lo que dos nuevas vacunas conjugadas incluyeron nuevos serotipos (VNC10 y VNC13), que fueron autorizadas en 2010 para sustituir la "antigua" VNC7³⁴.

La introducción de la VNC7 en muchos países ha reducido drásticamente la incidencia de enfermedades neumocócicas en niños; no obstante, los adultos mayores presentan en la actualidad una mayor carga epidemiológica de enfermedad neumocócica según datos del European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2010⁷⁴. Teniendo en cuenta que los niños son el principal reservorio de neumococo y que representan la fuente de neumococos que se transmiten a los adultos (especialmente a adultos mayores), son necesarios datos actualizados sobre la epidemiología de infecciones neumocócicas en población adulta, antes y después de la introducción de 8 vacunas conjugadas en diferentes entornos geográficos. Estos estudios deben proporcionar datos importantes para evaluar los posibles efectos directos e indirectos de los programas de la vacunación antineumocócica.

- **OBJETIVOS**

Objetivo general

-Conocer la importancia de los serotipos circulantes de *S. pneumoniae*, tanto en enfermedad invasiva como en infección del tracto respiratorio (TR).

Objetivos específicos

-Determinar los factores asociados con el desarrollo de la enfermedad y la evolución fatal de la misma.

-Valorar si existe relación entre determinados serotipos y patrones de resistencia y sensibilidad antibiótica determinados por el estudio de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) para los principales antibióticos β -lactámicos y glicopéptidos, por su implicación en Salud pública.

-Comparar los resultados de sensibilidad antibiótica obtenidos según la determinación de las CMI obtenida por método de microdilución por MICroSTREP plus MicroScan y el método de dilución en agar.

-Analizar el reflejo de la vacunación sobre la aparición y circulación de los diferentes serotipos de neumococo.

METODOLOGÍA

Estudio retrospectivo que se centra en la valoración de cepas de *S. pneumoniae* aisladas en muestras invasivas (todos los casos las muestra procedían de lugares normalmente estériles: sangre y líquido cefalorraquídeo) y de muestras respiratorias obtenidas de pacientes con clínica respiratoria compatible con proceso infeccioso, durante el periodo comprendido entre enero de 2011 y octubre de 2013 en el Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

La identificación de *S. pneumoniae* se realizó por la prueba de la optoquina. El estudio de serotipos realizado posteriormente en el laboratorio de referencia del Centro Nacional de Microbiología (CNM) (ISCIII).

La sensibilidad antibiótica se realizó en el HUMS mediante microdilución por el sistema MICroScan WalkAway y en el CNM por el método de dilución en agar, testando los siguientes antibióticos: penicilina, cefotaxima, eritromicina, levofloxacin y vancomicina.

En este estudio la interpretación de las CMI's para el análisis estadístico de los datos, se realizó según los valores obtenidos mediante el método de dilución en agar que se realizó en el laboratorio de referencia (CNM ISCIII). Posteriormente se compararon los valores de CMI's de sensibilidad antibiótica obtenidos por método de microdilución por MICroSTREP plus MicroScan y el método de dilución en agar

En este estudio el método de dilución en agar, se consideró como el método de referencia. En esta comparación entre los diferentes métodos estudiados, se utilizaron los criterios y las categorías previamente descritas por Thornsberry y Gavan⁶³: concordancia (en ambos métodos se obtienen interpretaciones idénticas de sensibilidad), discrepancia muy importante o error muy grave (el método de referencia indica que el microorganismo es resistente, aunque el método alternativo indica que el microorganismo es sensible), discrepancia importante o error grave (a la inversa, el método de referencia indica que el microorganismo es sensible, aunque el método comparativo indica que el microorganismo es resistente) y discrepancia menor o error menor (cuando se obtiene un resultado en el que los valores de CMI obtenidos por ambos métodos,

aunque diferentes entre sí, no modifican la categorización de sensible o de resistente).

La actividad in vitro de los antimicrobianos se evalúa habitualmente mediante alguna de las variantes de los métodos de dilución.

Estos métodos se basan en la determinación del crecimiento del microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antimicrobiano, que se encuentra diluido en el medio de cultivo (caldo o agar).

El instituto nacional de microbiología cuenta con un sistema de inoculación múltiple para placas de agar, en el que cada placa, con una cierta concentración de antimicrobiano, permite inocular simultáneamente un gran número de microorganismos.

Nuestro laboratorio utiliza placas de microtitulación que facilita la utilización del método de microdilución con caldo; contamos con el método automatizado microscan walka way como sistema de microdilución en caldo, fácilmente integrables en sistemas (semi)automáticos de lectura e interpretación de resultados, de acuerdo a lo establecido por la casa comercial.

MEDIOS DE CULTIVO, REACTIVOS Y PRODUCTOS

- Tubos de agua estéril o suero fisiológico

- Espectrofotómetro COLORIMETER DINKO instruments McF

- Paneles comerciales MICroSTREP plus MicroScan (Siemens Medical Solutions Diagnostics, West Sacramento, CA) para la determinación de la sensibilidad antibiótica de las cepas de *S. pneumoniae* por microdilución.

- Para la aceptación de los resultados fue indispensable que los controles de calidad cumplieran los estándares y para ello se utilizó la cepa *S. pneumoniae* American Type Culture Collection (ATCC) 49619 recomendada por el CLSI.

Las cepas se archivaron en medio de glicerol al 20% a menos 80°C.

1. PROCEDIMIENTO PARA MICRODILUCIÓN EN CALDO

1. Realizar una suspensión bacteriana en medio líquido estéril a partir de colonias aisladas. El inóculo debe tener una turbidez equivalente al 0,5 de la escala McFarland.

2. Realizar una siembra por agotamiento en la placa de agar sangre para comprobar que no ha habido contaminación durante la manipulación de la muestra.
3. Transferir 100 µl del inóculo a un tubo con 15 ml de caldo de Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre lisada de caballo.
4. Inocular la placa de microdilución con 115 µl con inoculador automático MicroScan RENOK Siemens.
5. Incubar durante 20-24 horas en una estufa con una temperatura de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ sin CO_2 .
6. Lectura de la CMI por el sistema MicroScan WalkAway.

2. PROCEDIMIENTO PARA DILUCIÓN EN AGAR

Se emplearon placas circulares de 90mm de diámetro con 20 ml de agar sangre (Becton Dickinson, Le Point the Claix, Francia) y concentraciones determinadas de cada agente antimicrobiano en la proporción de 19 ml de medio por 1 ml de la solución correspondiente de agente antimicrobiano. Las placas y los controles de medio sin el agente antimicrobiano se utilizaron el mismo día de su preparación.

Cuatro o 5 colonias del microorganismo por estudiar se diluyeron en caldo Mueller-Hinton suplementado (Becton Dickinson, Le Point the Claix, Francia) para obtener una turbidez cercana al 0,5 de la escala de McFarland, equivalentes a 108 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Previa dilución 1:10, se empleo un replicador de Steers que inoculo 1 - 2 ul en cada punto de contacto, lo que equivale a aproximadamente a 10^4 UFC de cada microorganismo por ml en placas de agar Mueller-Hinton.

Las placas así inoculadas se incubaron a $35^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ de 16 a 20 h; a continuación se procedió a su lectura. Las CMI se definieron como la concentración mas baja a la que sucedia una inhibición completa del crecimiento. No se valoró la presencia de una sombra o de una única colonia en el punto de inoculación 12.

En el análisis de los resultados se utilizaron los criterios y los puntos de corte que recomienda el CLSI¹².

INTERPRETACION DE LAS CMI

La CMI se interpretó de acuerdo con el (CLSI) ³⁵.

INTERPRETACIÓN DE LA CMI DE PENICILINA

Aislamientos meníngeos:

- CMI de penicilina $\leq 0,06$ mg/L: Se informa como sensible a la penicilina.
- CMI de penicilina $\geq 0,12$ mg/L: Se informa como resistente a la penicilina.

Aislamientos no meníngeos:

- CMI de penicilina $\leq 0,06$ mg/L. Se Informa como sensible a la penicilina. Estas cepas también son sensibles a la ampicilina por vía oral o parenteral y a todos los betalactámicos.
- CMI de penicilina (parenteral) $\geq 0,12$ mg/L y ≤ 2 mg/L. Se Informa como sensible a la penicilina. Estas cepas también son sensibles a amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima y ertapenem.
- En caso de que se vaya a utilizar penicilina por vía oral se informa: a) CMI de penicilina $\leq 0,06$ mg/L: sensible; CMI de penicilina 0,12-1 mg/L: intermedio; CMI de penicilina ≥ 2 mg/L: resistente.
- CMI de penicilina (parenteral) = 4 mg/L. Se Informa como “resistencia intermedia” a la penicilina.
- CMI de penicilina (parenteral) > 4 mg/L. Se Informa como resistente a la penicilina.

INTERPRETACIÓN DE LA CMI DE CEFOTAXIMA

Aislamientos meníngeos:

- CMI de cefotaxima $\leq 0,5$ mg/L. Se informa como sensible a la cefotaxima.
- CMI de cefotaxima =1 mg/L. Se informa como resistencia intermedia a la cefotaxima.
- CMI de cefotaxima ≥ 2 mg/L

Se informa como resistente a la cefotaxima.

Aislamientos no meníngeos:

- CMI de cefotaxima ≤ 1 mg/L. Se informa como sensible a la cefotaxima.
- CMI de cefotaxima = 2 mg/L. Se informa como resistencia intermedia a la cefotaxima.
- CMI de cefotaxima ≥ 4 mg/L. Se informa como resistente a la cefotaxima.

A continuación esta tabla 2 ilustra de forma grafica los niveles de CMI para categorizar a los antibióticos testados como sensible, intermedio y/o resistente, según los puntos de corte CLSI.

Tabla 2: Criterios CLSI de concentración inhibitoria mínima MIC (μ L/mL) de *Streptococcus pneumoniae*³⁵.

Antimicrobial Agent	MIC (μ g/mL) Interpretive Standard		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillin			
Nonmeningitis	2	4	8
Meningitis	0.5	1	2
Ciprofloxacin			
Ciprofloxacin	1	2	4
Ceftazidime			
Nonmeningitis	1	2	4
Meningitis	0.5	1	2
Ceftriaxone			
Nonmeningitis	1	2	4
Meningitis	0.5	1	2
Vacomycin			
Vacomycin	1	-	-

SEROTIPADO

El serotipado de las cepas fue realizado en el laboratorio de referencia del Centro Nacional de Microbiología (CNM) (ISCH) ³⁶

El esquema de tipificación se realiza en tres pasos:

En primer lugar, se pone a prueba todos los *S. pneumoniae* frente a antisueros para SGT 3, 6, 9, 14, 19, y 23 (alrededor de 60 % de total de cepas pertenecen a ellos).

Los aislados que no se pueden tipar en la primera ronda son probado en un segundo paso contra antisueros para los otros nueve serogrupos prevalentes, 1,4 ,5, 7,8,11,12,15 y 18 (representan alrededor del 20 % de las cepas).

Por último, las cepas que son negativas o que dan resultados equívocos por ensayo de transferencia de puntos con estos 15 antisueros se tipan

directamente por la reacción quellung usando antisueros específicos de tipos comercial Statens Seruminstitut, Copenhagen, Denmark ³⁷.

Tipo de estudio: Se realiza un estudio descriptivo retrospectivo de los serotipos aislados en los casos de ENI y ER.

Variables de medición: Serotipos de *S. pneumoniae* y su distribución por sexo, edad, serotipo, diagnóstico inicial al momento del ingreso (enfermedad respiratoria: Neumonía, enfermedad invasiva: bacteriemia, meningitis, meningoencefalitis), enfermedad de base (Absceso periamigdalino, accidente cerebral vascular (ACV), artritis reumatoidea, cáncer de colon, mama, pulmón, cardiopatía, diabetes, derrame pleural, Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), esplenectomizado, hepatitis B, insuficiencia renal crónica, leucemia, lues, meningitis, meningoencefalitis, mieloma múltiple, gastroenteritis, peritonitis, pielonefritis, tuberculosis (TBC), trasplante renal, hepatitis C, virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Serotipos por letalidad y estacionalidad (según mes del año).

Se determinaran de los patrones de resistencia y sensibilidad a antibióticos en relación con los serotipos identificados. Se analizaran los siguientes antibióticos: penicilina, cefotaxima, eritromicina, levofloxacino y vancomicina y correlación entre los sistemas de sensibilidad.

Análisis (estadístico):

Se determinan los factores relacionados con la ENI y ER con los serotipos más frecuentes mediante análisis univariante. Se utilizará el test Chi Cuadrado para ver si existe relación entre la resistencia a los antibióticos y los serotipos.

Para el estudio se utilizará el paquete estadístico SPSS.15v.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos tras valorar 226 historias clínicas de pacientes en los que se les aisló *S. pneumoniae* durante el periodo comprendido entre enero de 2011 y octubre de 2013 en el Hospital Miguel Servet de Zaragoza.

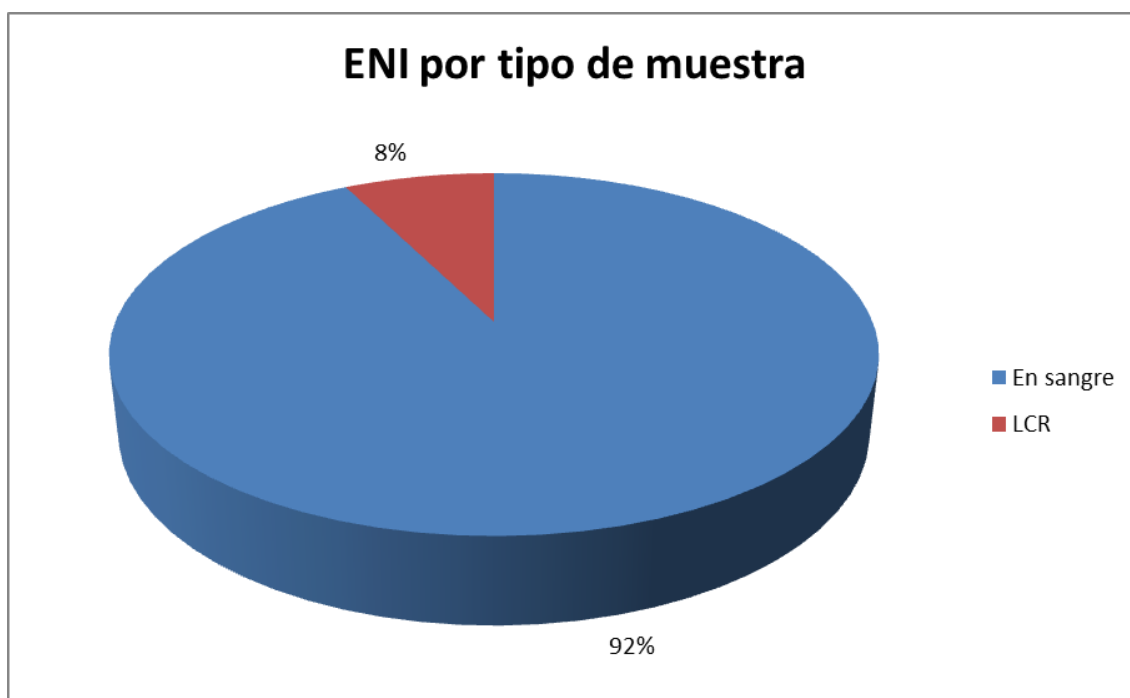
Dichos aislados de *S. pneumoniae* se valoraron según si provenían de paciente con enfermedad neumocócica invasiva o de enfermedad respiratoria.

A su vez los aislados de enfermedad neumocócica invasiva se analizaron de forma global y por separado según si el aislado provenía de sangre en caso de bacteriemia o de líquido cefalorraquídeo en caso de meningitis.

Se ha observado que la incidencia en personas de edad avanzada (mayores de 65 años) es superior a la incidencia en personas de menor edad.

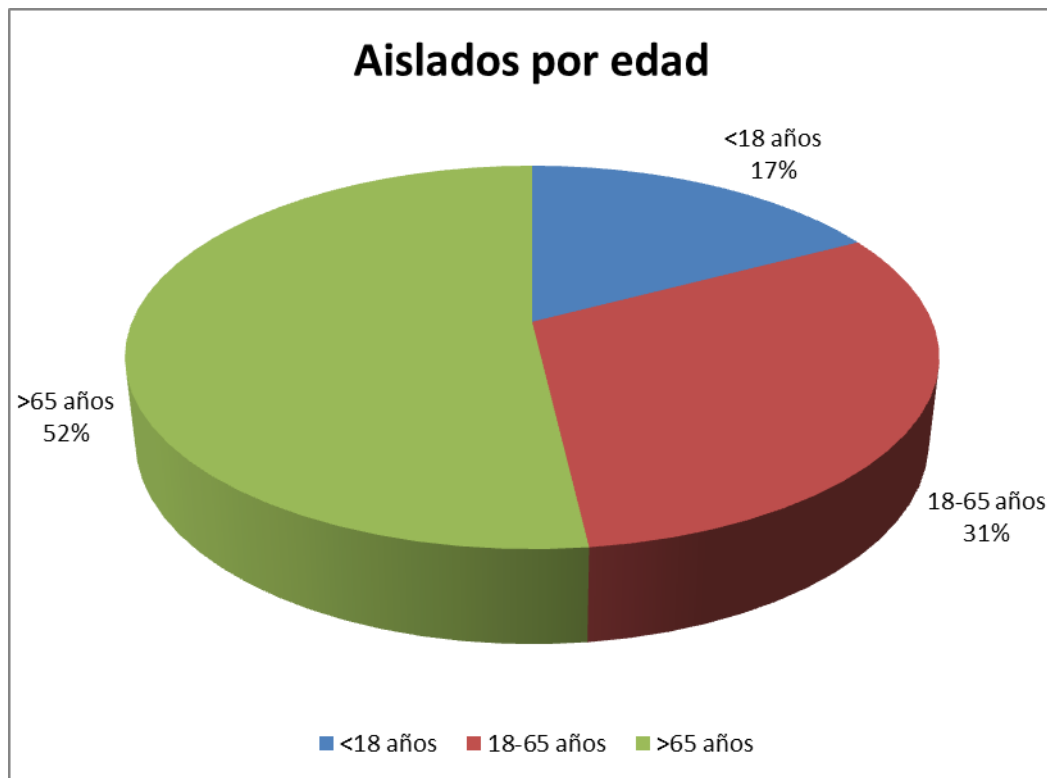
ENFERMEDAD INVASIVA

Un total de 80 aislados clínicos en ENI fueron investigados, 74 (92%) de sangre y 6 (8%) de líquido cefalorraquídeo, que representaban 27 serotipos diferentes.



Las edades de los aislados fueron:

Edad	Número de aislados
<18 años	13
18-65 años	25
>65 años	42

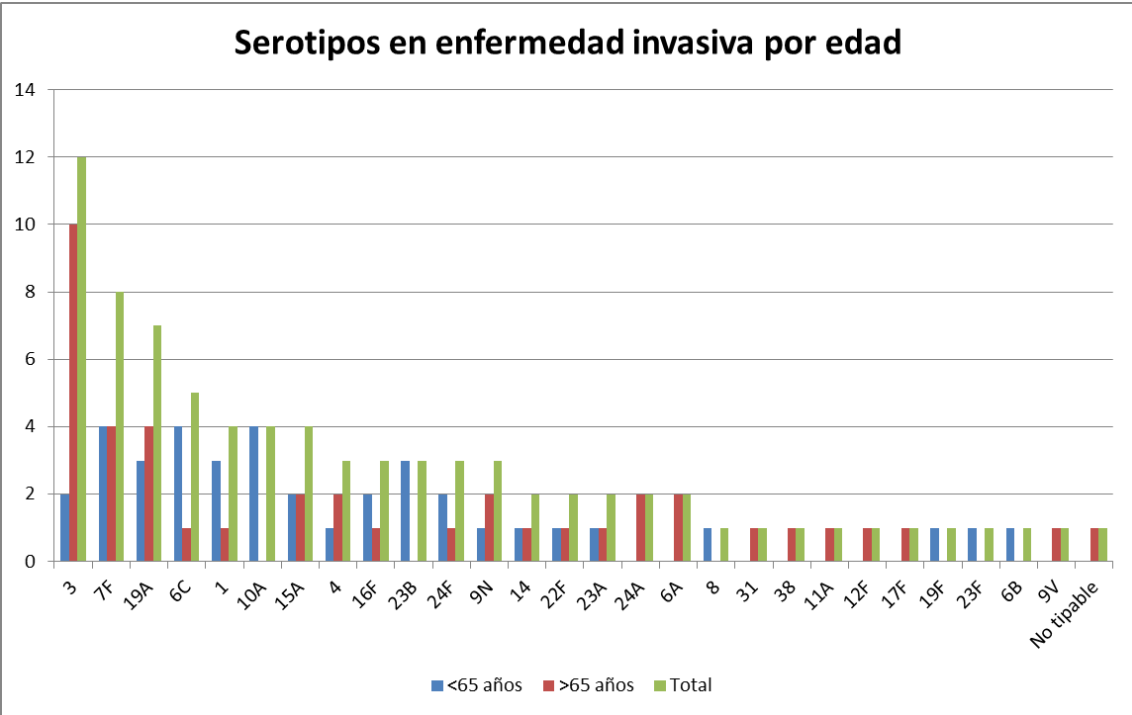


La edad media de los casos es de 56,05 años, con un rango entre 0 y 95 años.

El 62,5% (n=50) fueron hombres y el 37,5% (n=30) mujeres. Razón hombre-mujer: 1,6.



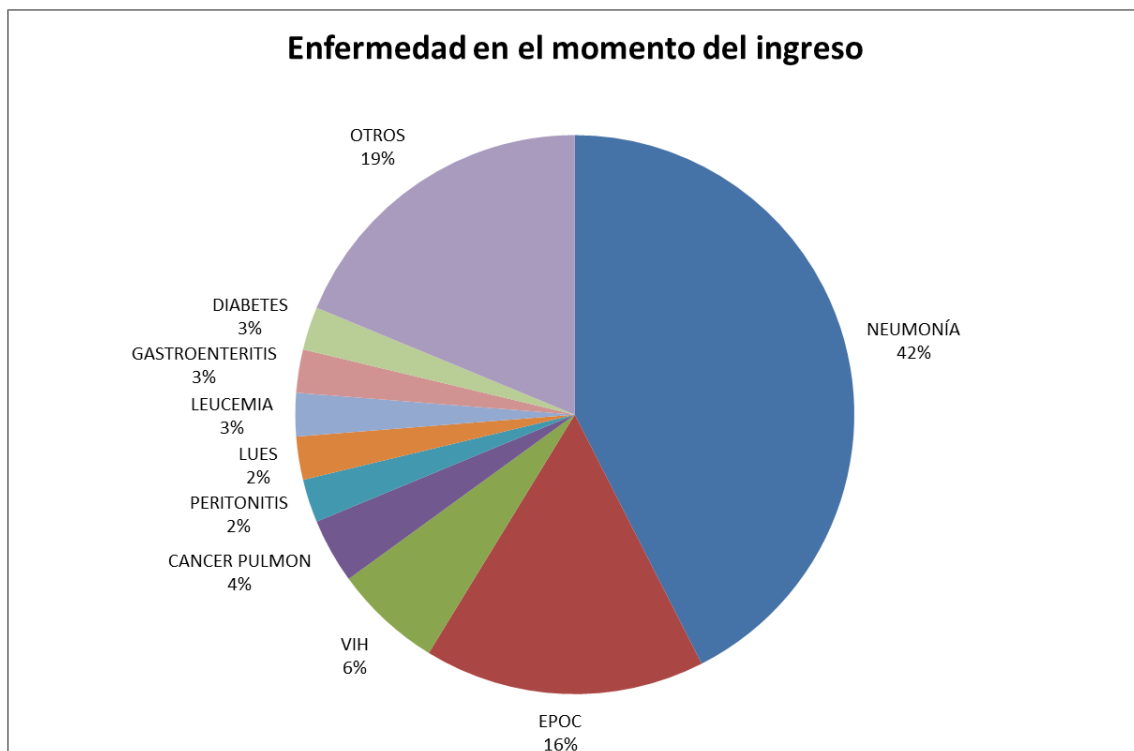
En los pacientes menores de 65 años los serotipos más frecuentes fueron 6C, 7F y 10A. En los pacientes mayores de 65 años los serotipos más frecuentes fueron 3, 7F y 19A.



Datos en Tabla 4 (Anexo I)

En relación con la enfermedad invasiva de los 80 pacientes que tuvieron bacteriemia 34 (42,5%) presentaron neumonía.

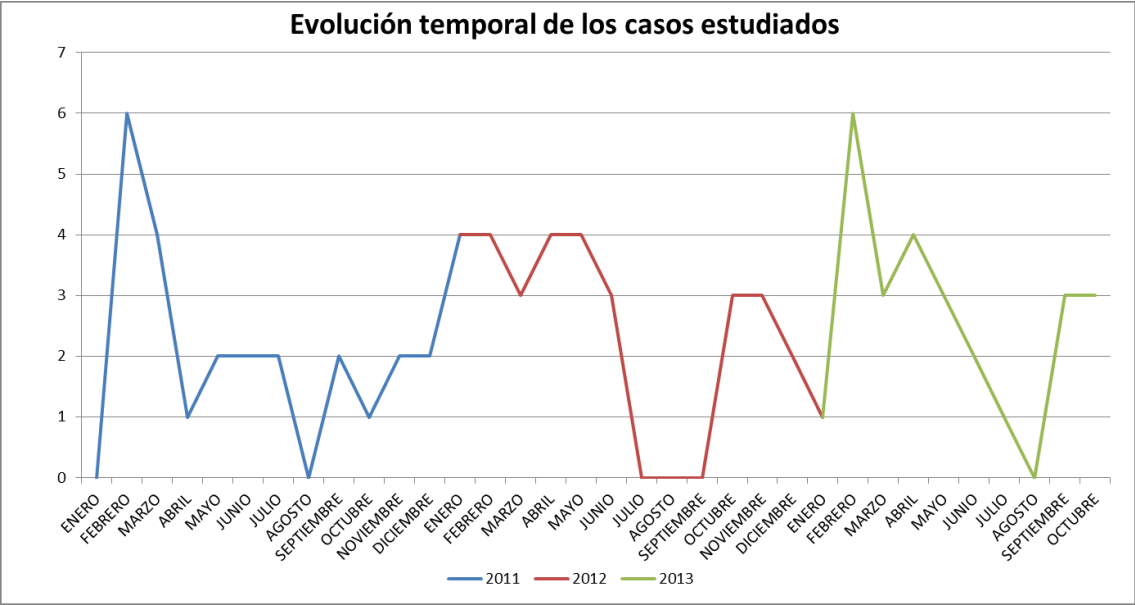
En relación con patología de base al ingreso, la entidad que se presentó con mayor frecuencia fue enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) 13 (16,3%) casos, VIH 5 casos (6,3%), otras enfermedades tales como cánceres (pulmón, mama y colon), peritonitis, lues, leucemia, gastroenteritis y diabetes entre otras enfermedades representaron el 34,9% restante.



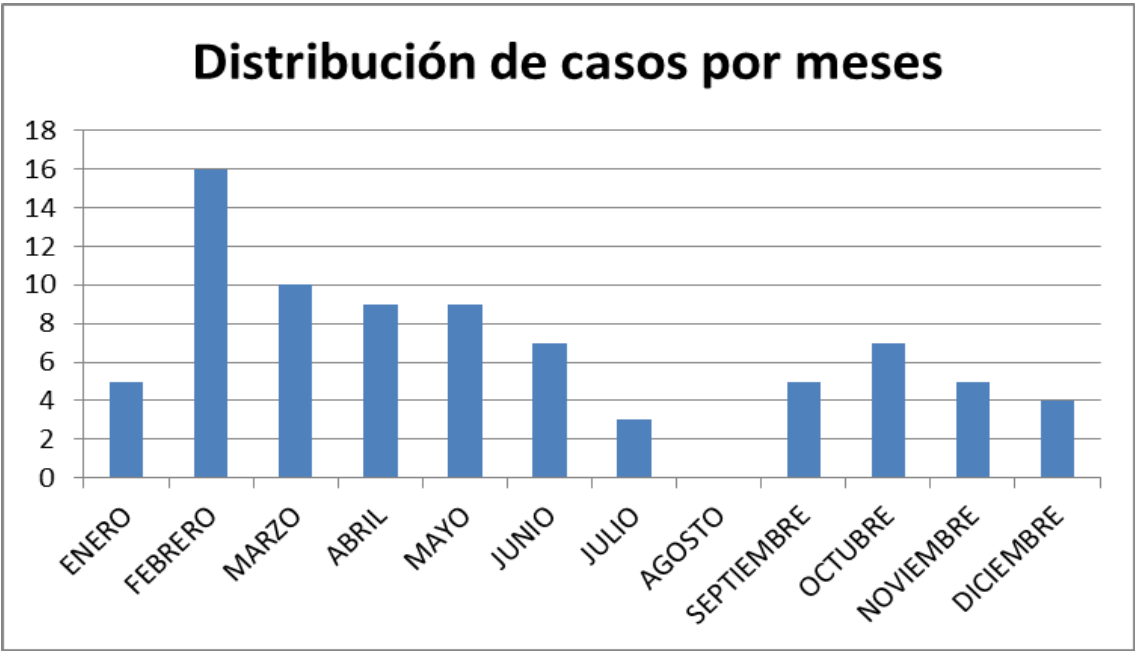
Datos en Tabla 2 (Anexo I)

Diez pacientes no tenían antecedentes patológicos previos al ingreso.

En relación con la estacionalidad, los meses del año con mayor número de casos observados fueron: febrero con 16 casos (20%), marzo con 10 casos (12,5%) y abril con 9 casos (11,2%). No se observó algún serotipo prevalente.



Datos en Tabla 3 (Anexo I)



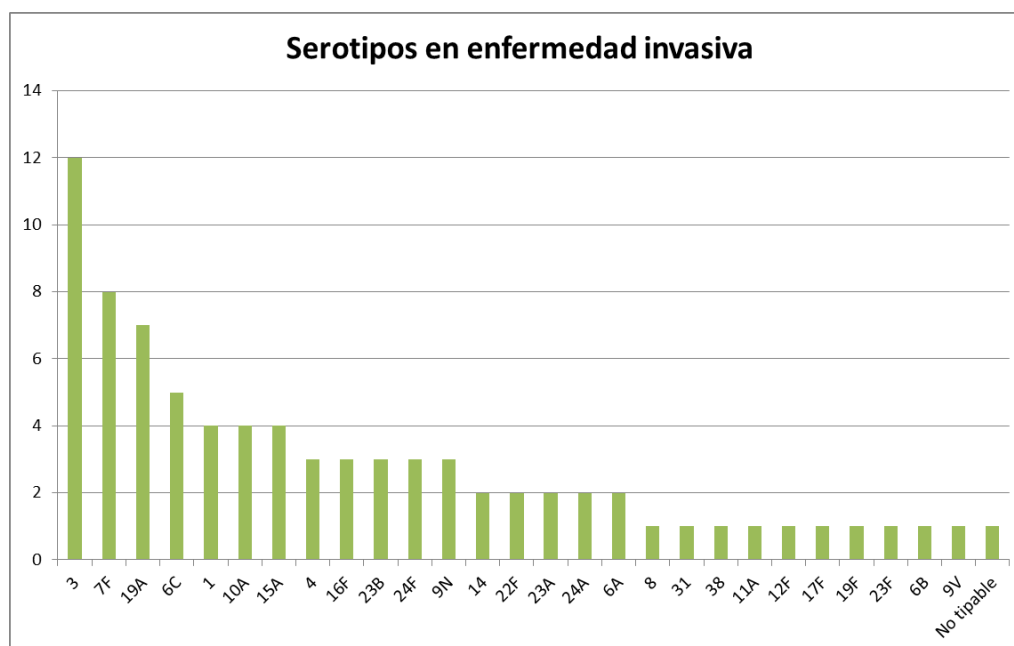
Datos en Tabla 3 (Anexo I)

En el periodo 2011-2013 se han producido 6 fallecimientos, es decir que el 7,5% del total de pacientes evaluados durante este periodo fallecieron a causa de enfermedad invasiva, causadas por diferentes serotipos (3, 6A, 9N, 11A, 17F, 19A) con edades comprendidas entre 72 y 94 años. Los pacientes fallecidos se distribuyen de la siguiente forma:

Inmunocomprometidos	Cáncer de pulmón	1
	Cáncer de mama	1
	Trasplantado renal	1
Accidente cerebral vascular con muerte cerebral		1
Neumonía		2
Total de pacientes fallecidos		6

Hombres	3
Mujeres	3
Total de pacientes fallecidos	6

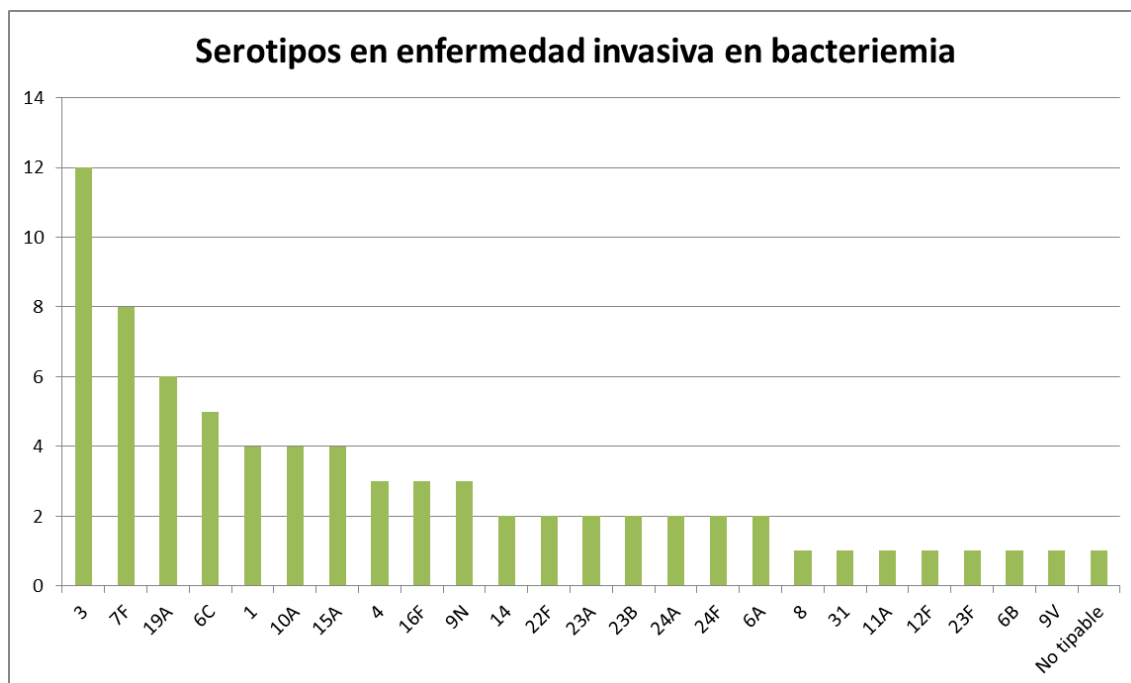
Los serotipos más frecuentes en ENI fueron 3 (15 %), 7F (10 %), 19A (8,8 %) y 6C (6,3 %) (Datos en Tabla 1 – Anexo I).



Datos en Tabla 1 (Anexo I)

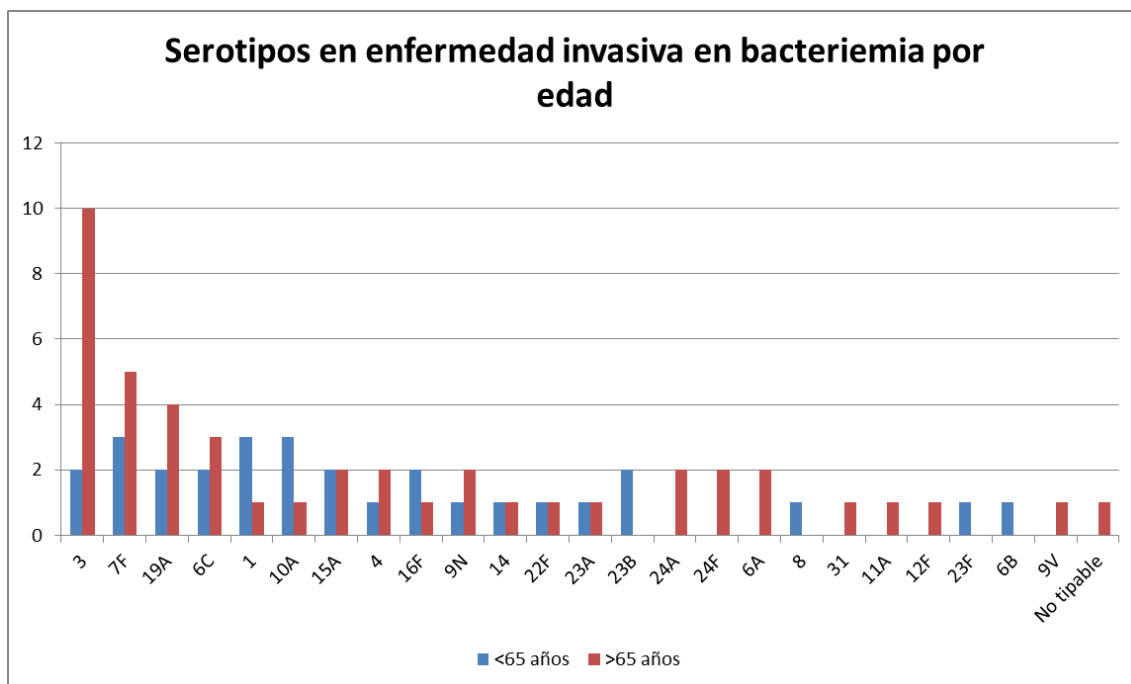
SEROTIPOS AISLADOS EN BACTERIEMIA

Los serotipos más frecuentes en bacteriemia fueron el 3 en 12 aislados (16,2%), seguido del 7F en 7 aislados (9,5%) y el 19A en 6 aislados (8,1%). Los demás serotipos se ilustran en la tabla 4 del Anexo I.



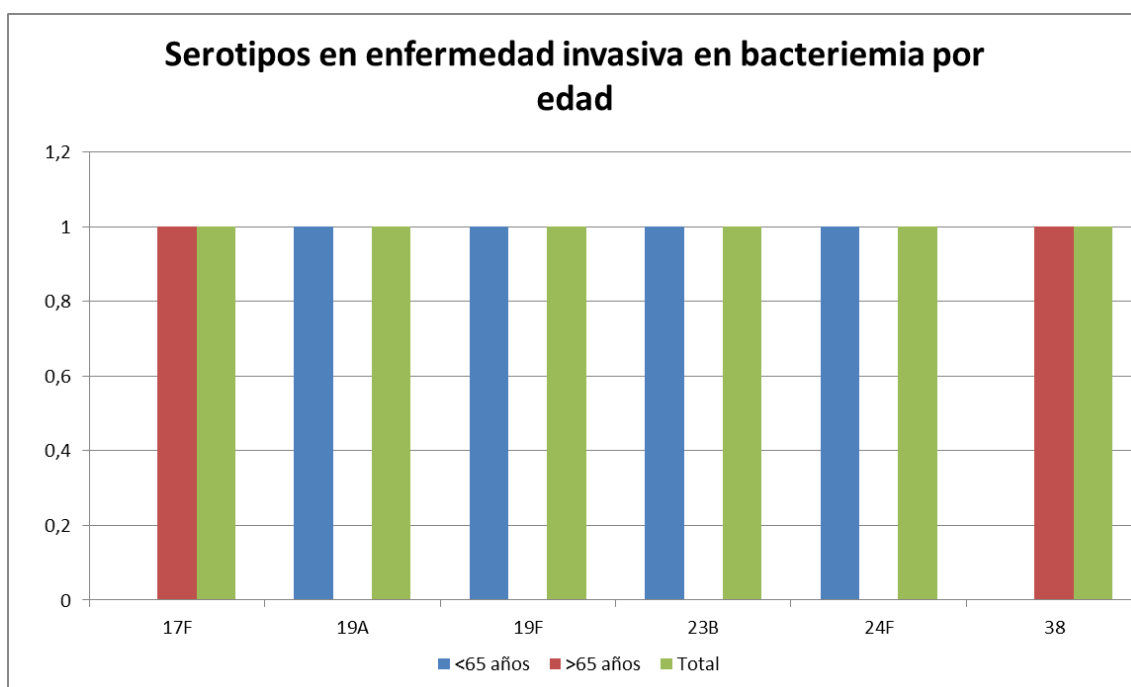
La edad media fue de 56,5 años (DE: 28,80) con un rango entre 5 meses y 94 años. Clasificando a los aislados por edad tendríamos 45 mayores de 65 años y 29 menores de 65 años.

La distribución de los serotipos por edad (mayores y menores de 65 años) es la siguiente:



SEROTIPOS AISLADOS EN MENINGITIS

Los serotipos aislados de las seis muestras de LCR fueron 17F, 19A, 19F, 23B, 24F y 38. Como se observa no hubo prevalencia de ningún serotipo. La edad media fue de 50,5 años (DE: 25,22) con un rango entre 1 y 78 años. Como se ilustra en la tabla 5 del Anexo I.



SENSIBILIDAD ANTIBIOTICA EN AISLADOS INVASIVOS

En relación con la sensibilidad antibiótica, se valoraron MIC para aislamientos meníngeos y extra meníngeos.

Los resultados de sensibilidad antibiótica obtenidos con MICrostrep se describen en la tabla 3 y 4 a continuación:

Tabla 3: CMLs obtenidas con MICroSTREP

	<=0,06	0,12-1	<=0,25	<=0,5	<=1	<=2	4	>=1	>=8
Penicilina (menígea)	2 (33,3%)	4 (66,6%)							
Penicilina (Extrameningea)						73 (98,7%)	1 (1,3%)		
Cefotaxime (Meningea)				6 (100%)					
Cefotaxime (Extrameningea)					72 (97,3%)		2 (2,7%)		
Eritromicina		55 (68,7%)						25 (31,3%)	
Levofloxacin						79 (98,7%)			1 (1,3%)
Vancomicina					80 (100%)				

Tabla 4: CMLs obtenidas con MICroSTREP según serotipo

Serotipo	Penicilina				Cefotaxime			Eritromicina			Levofloxacin			Vancomicina	Número de aislados
	<=0.06	0.12-1	2	4	<=0.5	1	2	0.12	64	128	1	2	16	0.5	
3	12				12			12			12			12	12
7F	8				8			8			8			8	8
19A	1	2	3	1	3	2	2	2		5	7			7	7
6C	1	4			5					5	5			5	5
1	4				4			4			4			4	4
10A	4				4			3		1	4			4	4
15A		4			4					4	4			4	4
4	3				3			3			2	1		3	3
16F	3				3			2		1	3			3	3
23B	2	1			3			3			3			3	3
24F		3			3					3	3			3	3
9N	3				3			3			3			3	3
14		1	1			2		2			2			2	2
22F	2				2			2			2			2	2
23A	2				2			1		1	2			2	2
24A	1	1			2			1		1	2			2	2
6A	2				2			1	1		1		1	2	2
6B			1			1				1	1			1	1
8	1				1			1			1			1	1
31	1				1			1			1			1	1
38	1				1			1			1			1	1
11A			1			1		1			1			1	1
12F	1				1			1			1			1	1
17F	1				1			1			1			1	1
19F		1			1					1	1			1	1
23F	1				1			1			1			1	1
9V	1				1			1			1			1	1
No tipable		1				1				1	1			1	1
Totales	55	18	6	1	71	7	2	55	1	24	78	1	1	80	80

En cuanto a la resistencia antibiótica en enfermedad invasiva en relación con la prevalencia de serotipo se encontró: (ver tabla 5)

De los 80 aislados testados 1 (1,3%) fue resistente a penicilina (MIC =4 ug / mL) y su resistencia se presentó en el serotipo 19A. En 25 aislados (31,3%) se encontró resistencia a la eritromicina (MIC \geq 1 ug / mL), con predominio en el serotipo 19A, seguido de serotipo 6C, 15A y 24F.

Tabla 5: Resistencia antibiótica en ENI en relación con el serotipo

Serotipo	Total	Resistente a penicilina		Resistente a eritromicina	
		Total	%	Total	%
3	12		0,00%		0,00%
7F	8		0,00%		0,00%
19A	7	1	14,29%	5	71,43%
6C	5		0,00%	5	100,00%
1	4		0,00%		0,00%
10A	4		0,00%	1	25,00%
15A	4		0,00%	4	100,00%
4	3		0,00%		0,00%
16F	3		0,00%	1	33,33%
23B	3		0,00%		0,00%
24F	3		0,00%	3	100,00%
9N	3		0,00%		0,00%
14	2		0,00%		0,00%
22F	2		0,00%		0,00%
23A	2		0,00%	1	50,00%
24A	2		0,00%	1	50,00%
6A	2		0,00%	1	50,00%
8	1		0,00%		0,00%
31	1		0,00%		0,00%
38	1		0,00%		0,00%
11A	1		0,00%		0,00%
12F	1		0,00%		0,00%
17F	1		0,00%		0,00%
19F	1		0,00%	1	100,00%
23F	1		0,00%		0,00%
6B	1		0,00%	1	100,00%
9V	1		0,00%		0,00%
No tipable	1		0,00%	1	100,00%
Totales	80	1		25	

Se realiza un test de Chi Cuadrado de Pearson para comprobar si la resistencia a la penicilina tiene relación con el serotipo.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	10,561 ^a	27	,998
Razón de verosimilitudes	5,010	27	1,000
N de casos válidos	80		

a. 53 casillas (94,6%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,01.

El resultado indica que no hay relación ($p > 0,05$)

Se realiza un test de Chi Cuadrado de Pearson para comprobar si la resistencia a la eritromicina tiene relación con el serotipo.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	59,775 ^a	27	,000
Razón de verosimilitudes	74,363	27	,000
N de casos válidos	80		

a. 54 casillas (96,4%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,31.

El resultado indica que sí que hay relación ($p < 0,05$)

RESULTADOS DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA OBTENIDOS SEGÚN LA DETERMINACIÓN DE LAS CMIs POR MICRoSTREP Y DILUCIÓN EN AGAR EN ENFERMEDAD INVASIVA.

En la tabla 6 se describen: Número de aislados y porcentajes de concordancia y de discrepancias entre el método de referencia mediante dilución en agar y el de microdilución para *S. pneumoniae* a 6 agentes antimicrobianos (penicilina, amoxicilina, cefotaxima, eritromicina, levofloxacino y vancomicina). Del total de

80 aislados hubo 3 de los que no se dispuso CMI por dilución en agar.

Tabla 6: Concordancia entre el método MICroSTREP y de dilución en agar

Antibiótico	Concordancia	Discrepancia menor	Dm 1 dilución	Dm 2 diluciones	Dm > 2 diluciones	Discrepancia importante	Discrepancia muy importante
Penicilina	67 (87%)	10(13%)	9	1			
Amoxicilina	61 (79,2%)	15(20,2%)	11	2	1	1 (intermedio) (1,3%)	
Cefotaxima	74 (96,1%)	2 (2,6%)	2			1 (intermedio) (1,3%)	
Eritromicina	76 (98,7%)	1 (1,3%)	1				
Levofloxacin	70 (90,9%)	7 (9,1)	1				
Vancomicina	76 (98,7%)	1 (1,3%)	1				

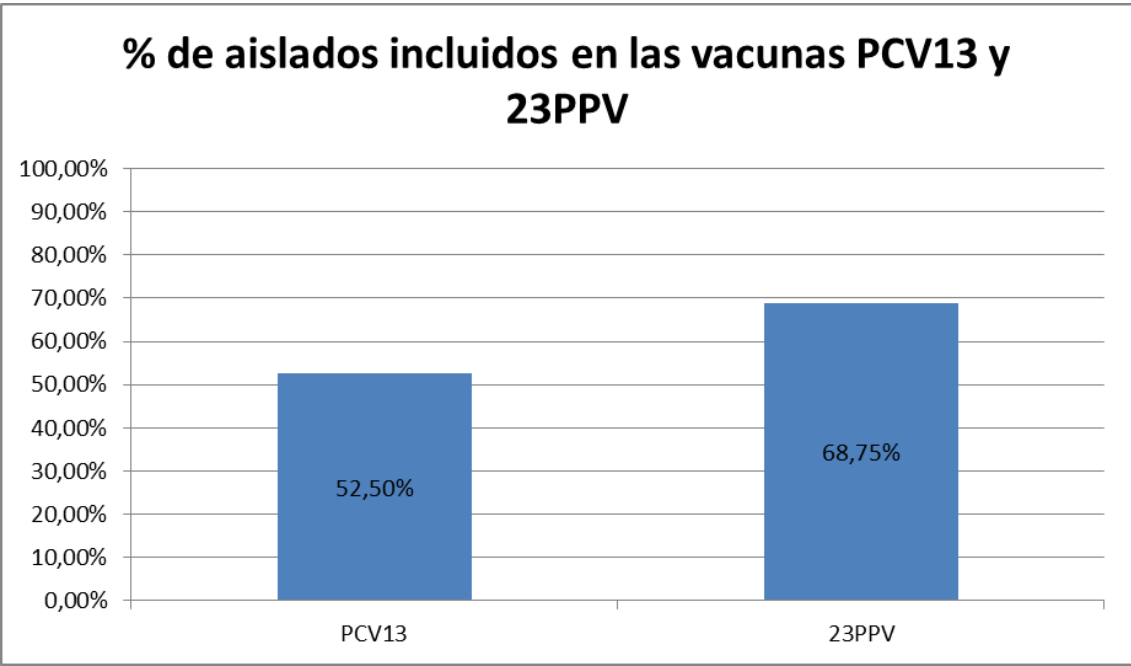
REFLEJO DE LA VACUNACIÓN SOBRE LOS SEROTIPOS CIRCULANTES EN ENFERMEDAD INVASIVA.

Respecto al análisis del reflejo de la vacunación sobre la aparición y circulación de los diferentes serotipos de neumococo, encontramos que la distribución de los serotipos de la vacuna fue 42 aislados estaban incluidos en la vacuna PCV13 y 53 aislados estaban incluidos en la vacuna 23PPV. Es decir que el 52,5% de los aislados estaban contenidos en la vacuna PCV13 y 68,75% de los aislados estaban incluidos en la vacuna para 23PPV.

En las tablas 7 y 8 se muestra el total de aislados de cada serotipo incluidos en cada vacuna.

Tabla 7: Serotipo incluido en la vacuna		
PCV13	Total	%
1	4	5,00%
3	12	15,00%
4	3	3,75%
5		0,00%
6A	2	2,50%
6b	1	1,25%
7F	8	10,00%
9V	1	1,25%
14	2	2,50%
18C		0,00%
19A	7	8,75%
19F	1	1,25%
23F	1	1,25%

Tabla 8: Serotipo incluido en la vacuna		
23PPV	Total	%
1	4	5,00%
2		0,00%
3	12	15,00%
4	3	3,75%
5		0,00%
8	1	1,25%
14	2	2,50%
10A	4	5,00%
11A	1	1,25%
12F	1	1,25%
17F	1	1,25%
19A	7	8,75%
19F	1	1,25%
22F	2	2,50%
23F	1	1,25%
6A	2	2,50%
6B	1	1,25%
7F	8	10,00%
9N	3	3,75%
9V	1	1,25%
20		0,00%
33F		0,00%
15B		0,00%



ENFERMEDAD RESPIRATORIA

Un total de 146 aislados clínicos en enfermedad respiratoria fueron investigados, que representaba 37 serotipos diferentes.

Las edades de los aislados fueron:

Edad	Número de aislados
<18 años	17
18-65 años	46
>65 años	83

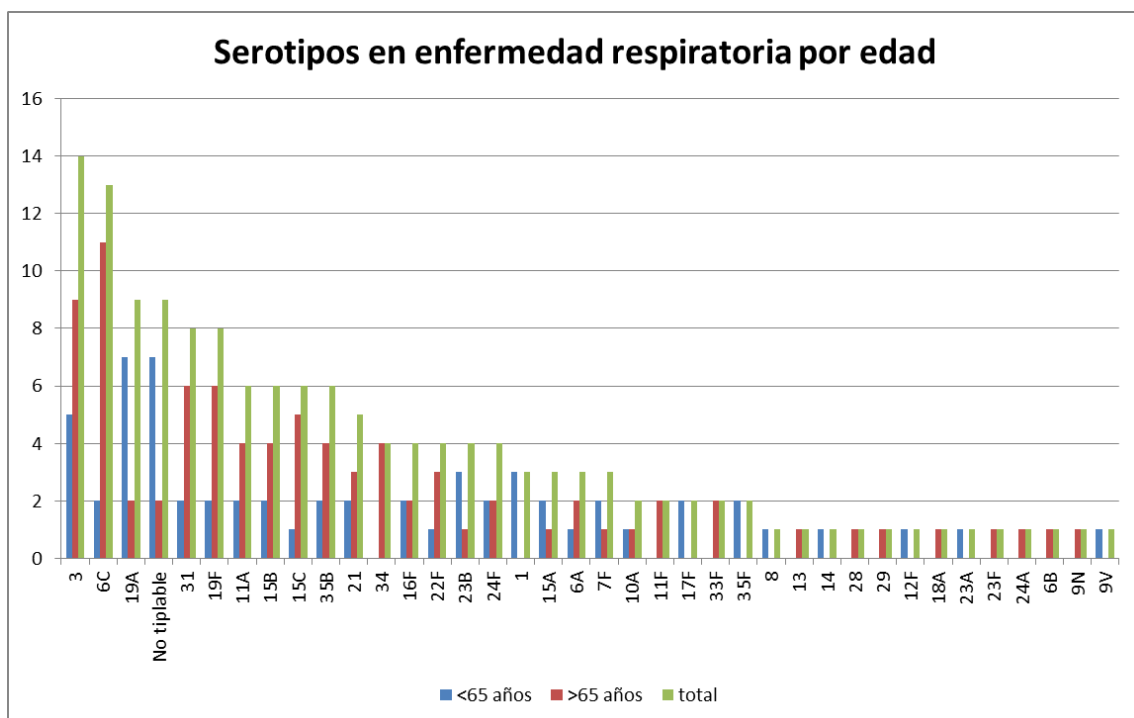


La edad media de los casos es de 57,77 años (DE: 24,47), con un rango entre 0 y 94 años.

El 74,7% (n=109) fueron hombres y el 25,3% (n=37) mujeres. Razón hombre-mujer: 2,95.

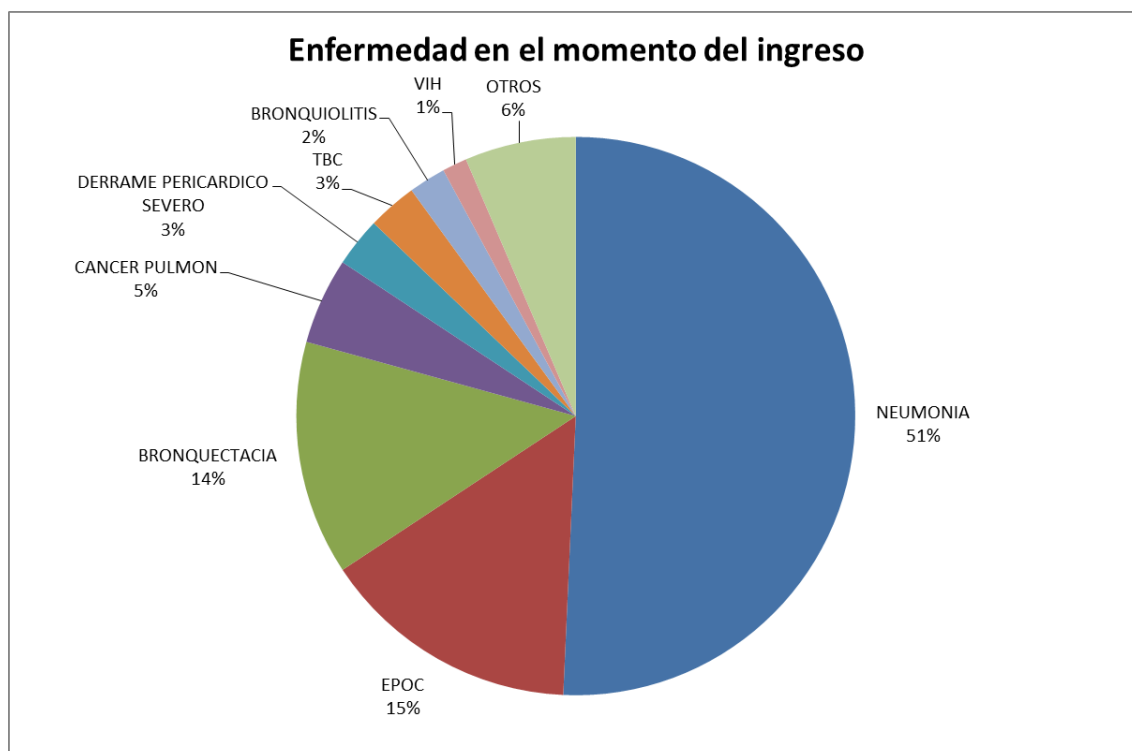


En pacientes menores de 65 años se encontró que los serotipos más frecuentes fueron el 19A y 3. En los pacientes mayores de 65 años el serotipo más frecuente fue el 6C y 3.



Datos en Tabla 2 (Anexo I)

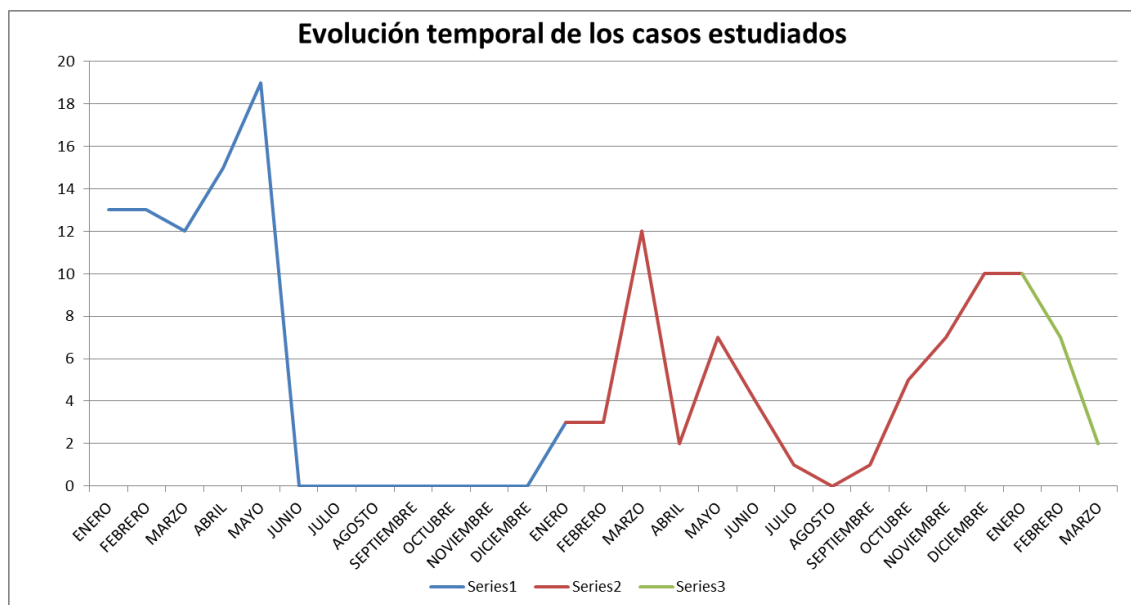
En relación con patología de base al ingreso, la entidad que se presentó con mayor frecuencia fue enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) 21 (14,3%) casos, bronquiectasia 19 casos (13%), cáncer de pulmón 7 casos (4,7%) y otras enfermedades tales como derrame pericárdico, tuberculosis (TBC), bronquiolitis, VIH, entre otras enfermedades representan el 66,6% restante.



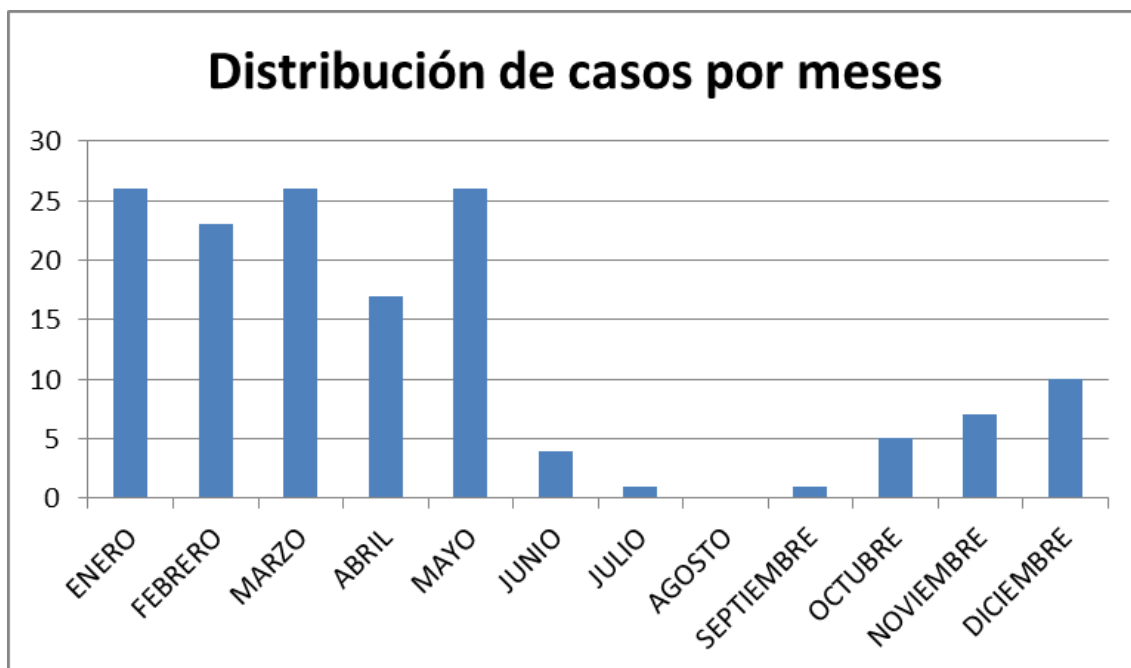
Datos en Tabla 7 (Anexo I)

Seis pacientes no presentaron enfermedad de base al ingreso.

En relación con la estacionalidad, los meses del año con mayor número de casos observados fueron: enero con 26 casos (17,8%), febrero con 23 casos (15,7%), marzo con 26 casos (17,8%) y abril con 17 casos (11,6%). No se observó algún serotipo prevalente.



Datos en Tabla 8 (Anexo 1)



Datos en Tabla 8 (Anexo 1)

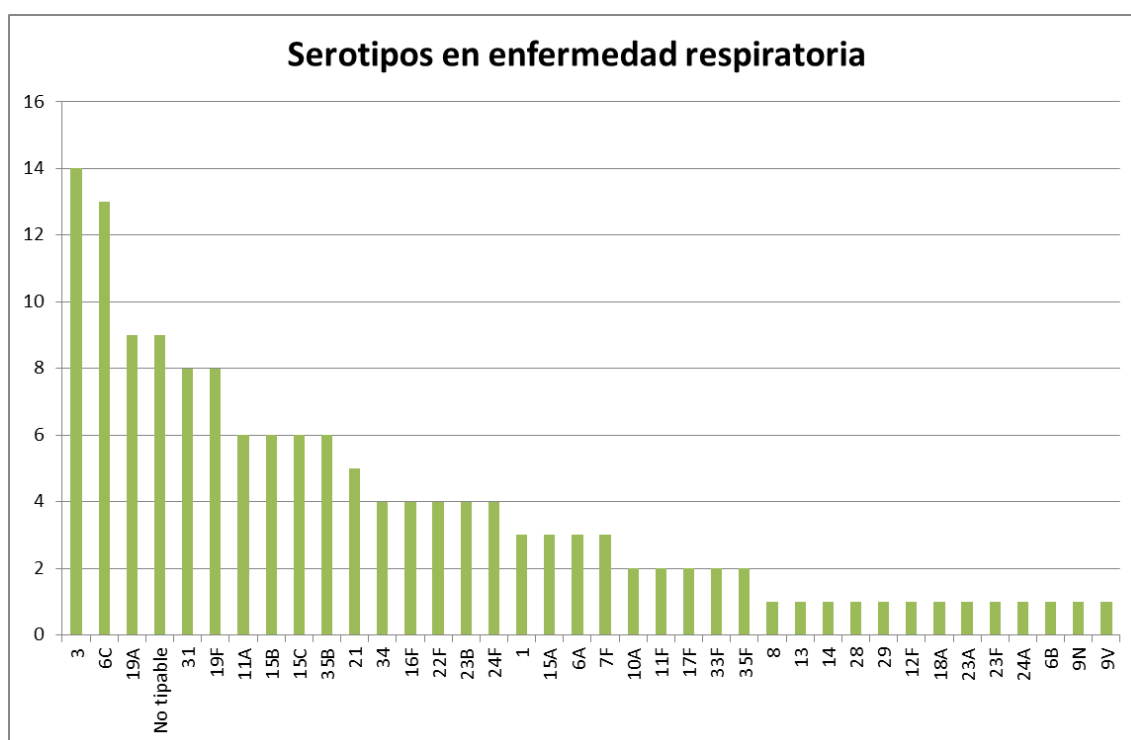
En el periodo 2011-2013 se han producido 7 fallecimientos, es decir que el 4,8% del total de pacientes evaluados durante este periodo fallecieron a causa de enfermedad respiratoria, causadas por diferentes serotipos (3, 6A, 15A, 15C, 19F, 24A y 24F), con edades comprendidas entre 40 y 94 años. De ellos 3 pacientes presentaron neumonía, 2 tenían antecedente de EPOC y 2 de bronquiectasia. Los pacientes fallecidos se distribuyen de la siguiente forma:

Neumonía	3
EPOC	2
Bronquiectasia	2
Total de pacientes fallecidos	7

Hombres	6
Mujeres	1
Total de pacientes fallecidos	7

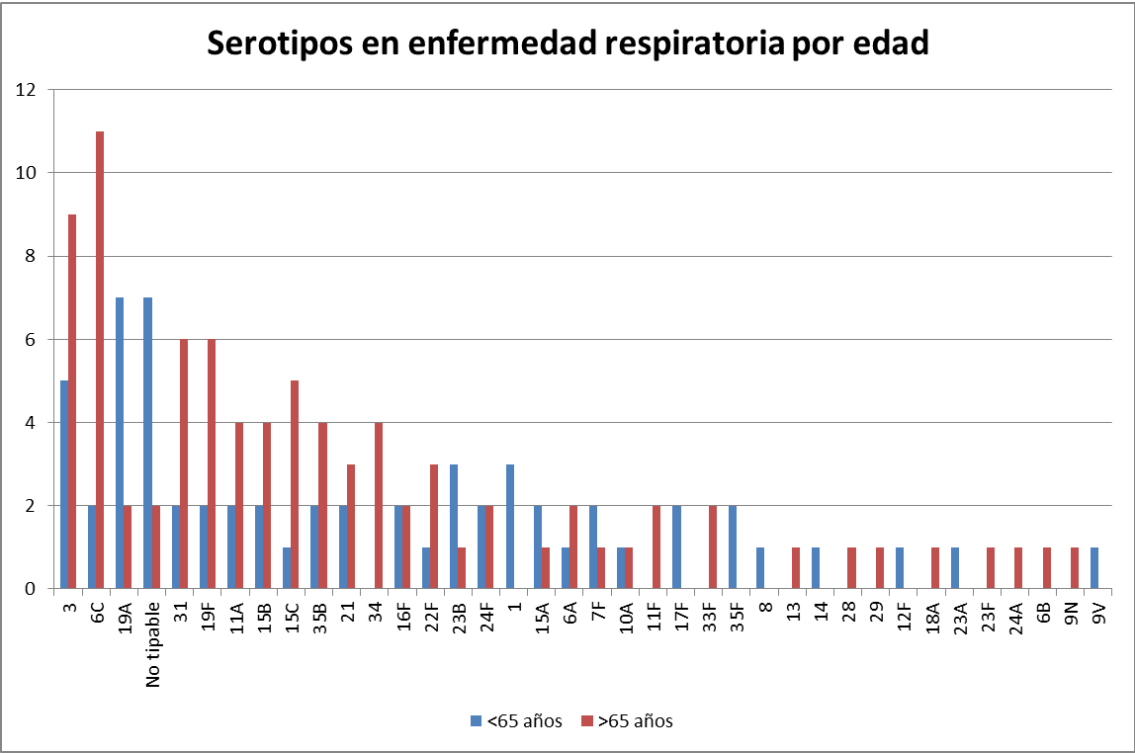
SEROTIPOS AISLADOS EN ENFERMEDAD RESPIRATORIA

Los serotipos más frecuentes fueron 3 (9,6 %), 6C (8,9 %) y 19A (6,1 %) (Datos en Tabla 8 – Anexo I).



Datos en Tabla 1 (Anexo I)

La distribución de los serotipos por edad (mayores y menores de 65 años) es la siguiente:



SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN AISLADOS RESPIRATORIOS

En relación con la sensibilidad antibiótica, se encontró MIC penicilina ≤ 2 ug/ml en 142 casos (97,2 %) e igual a 4 en 4 casos (2,7 %). La cefotaxima MIC fue ≤ 1 ug / ml en 141 casos (96,5 %), = 2 ug / ml en 4 casos (2,7%) y = 4 en 1 caso (0,6 %) también. La eritromicina MIC era $\leq 0,25$ ug / ml en 93 de los aislados (63,6 %) y ≥ 1 en 53 (36,3 %). Para MIC levofloxacina fue ≤ 2 en 137 casos (93,8 %) y 9 aislados (6,1 %) mostraron CIM ≥ 8 . MIC para la vancomicina era ≤ 1 en todos los casos (100 %) (Se describe en la Tabla 9 y 10)

Tabla 9: CMI's obtenidas con MICroSTREP

	$\leq 0,06$	0,12-1	$\leq 0,25$	$\leq 0,5$	≤ 1	≤ 2	4	≥ 1	≥ 8
Penicilina						142 (97,2%)	4 (2,7%)		
Cefotaxime					141 (96,5%)	4 (2,7%)	1 (0,6%)		
Eritromicina			93 (63,6%)					53 (36,3%)	
Levofloxacino						137 (93,8%)			9 (6,1%)
Vancomicina					146 (100%)				

Tabla 10: CMI's obtenidas con MICroSTREP según serotipo

Serotipo	Penicilina				Cefotaxime				Eritromicina					Levofloxacino					Vancomicina	Número de aislados
	$\leq 0,06$	0,12-1	2	4	$\leq 0,5$	1	2	4	0,12	16	32	64	128	1	2	8	16	32	0,5	
3	3	10	1		14				13				1	14					14	14
6C	10	3			13				2				11	11			1	1	13	13
19A	3	1	3	2	3	2	3	1	2				7	9					9	9
No tipable	4	4	1		7	2			5			1	3	7			2		9	9
31	8				8				8				8	8					8	8
19F	1	5	1	1	1	6	1			1			7	6			5		8	8
11A	3		3		3	3			3	1	1	1		6					6	6
15B	6				6				5			1		5		1			6	6
35B	3	3			4	2			6					6					6	6
21	5				5				5					4			1		5	5
34	4				4				4					4					4	4
16F	4				4				3				1	4					4	4
22F	4				4				4					4					4	4
23B	1	3			4				4					4					4	4
24F	1	3			4				1				3	4					4	4
1	3				3				3					3					3	3
15A		3			3				3					3					3	3
6A	2	1			3				2				2	3					3	3
7F	3				3				3					3					3	3
10A	2				2				2					2					2	2
11F	2				2					1			1	2					2	2
17F	2				2				2					2					2	2
33F	2				2				1				1	2					2	2
35F	2				2				2					2					2	2
8	1				1				1					1					1	1
13	1				1								1	1					1	1
14			1			1			1					1					1	1
28	1				1				1					1					1	1
29		1				1			1					1					1	1
12F		1				1			1					1					1	1
18A	1				1				1					1					1	1
23A	1				1								1	1					1	1
23F		1			1				1					1					1	1
24A		1			1								1	1					1	1
6B		1			1								1	1					1	1
9N	1				1				1					1					1	1
9V			1			1			1					1					1	1
Totales	81	36	10	3	115	19	4	1	92	2	2	3	41	131	0	1	9	1	139	139

En cuanto a la resistencia antibiótica en enfermedad respiratoria en relación con la prevalencia de serotipo se encontró: (ver tabla 11).

De los 146 aislados testados 4(2,7%) fueron resistentes a penicilina (MIC=4ug/mL) y su resistencia se presentó en los serotipos 19A y 19F. En 52 aislados (35,6%) se encontró resistencia a la eritromicina (MIC \geq 1ug/mL), con predominio en los serotipos 6C, 19F y 19A.

Tabla 11: Resistencia antibiótica en ER en relación con el serotipo

Serotipo	Total	Resistente a penicilina		Resistente a eritromicina	
		Total	%	Total	%
3	15		0,00%	1	6,67%
6C	13		0,00%	11	84,62%
19A	9	2	22,22%	7	77,78%
No tipable	9		0,00%	4	44,44%
31	8		0,00%		0,00%
19F	8	1	12,50%	8	100,00%
11A	6		0,00%	3	50,00%
15B	6		0,00%	1	16,67%
15C	6		0,00%	3	50,00%
35B	6		0,00%		0,00%
21	5		0,00%		0,00%
34	4		0,00%		0,00%
16F	4		0,00%	1	25,00%
22F	4		0,00%		0,00%
23B	4		0,00%		0,00%
24F	4		0,00%	3	75,00%
1	3		0,00%		0,00%
15A	3		0,00%	3	100,00%
6A	3		0,00%	1	33,33%
7F	3		0,00%		0,00%
10A	2		0,00%		0,00%
11F	2		0,00%	1	50,00%
17F	2		0,00%		0,00%
33F	2		0,00%	1	50,00%
35F	2		0,00%		0,00%
8	1		0,00%		0,00%
13	1		0,00%	1	100,00%
14	1		0,00%		0,00%
28	1		0,00%		0,00%
29	1		0,00%		0,00%
12F	1		0,00%		0,00%
18A	1		0,00%		0,00%
23A	1		0,00%	1	100,00%
23F	1		0,00%		0,00%
24A	1		0,00%	1	100,00%
6B	1		0,00%	1	100,00%
9N	1		0,00%		0,00%
9V	1		0,00%		0,00%
Totales	146	3		52	

Se realiza un test de Chi Cuadrado de Pearson para comprobar si la resistencia a la penicilina tiene relación con el serotipo.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	25,231 ^a	38	,944
Razón de verosimilitudes	13,685	38	1,000
N de casos válidos	146		

a. 68 casillas (87,2%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,02.

El resultado indica que no hay relación ($p > 0,05$)

Se realiza un test de Chi Cuadrado de Pearson para comprobar si la resistencia a la eritromicina tiene relación con el serotipo.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	90,932 ^a	38	,000
Razón de verosimilitudes	113,608	38	,000
N de casos válidos	146		

a. 71 casillas (91,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,36.

El resultado indica que sí que hay relación ($p < 0,05$)

RESULTADOS DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA OBTENIDOS SEGÚN LA DETERMINACIÓN DE LAS CMI_s POR MICRoSTREP Y DILUCIÓN EN AGAR EN ENFERMEDAD RESPIRATORIA.

En la tabla 12 a continuación se describen: Número de aislados y porcentajes de concordancia y de discrepancias entre el método de referencia mediante dilución en agar y el de microdilución para *S. pneumoniae* a 6 agentes antimicrobianos (penicilina, amoxicilina, cefotaxime, eritromicina, levofloxacino y vancomicina). Del total de 146 aislados hubo 5 de los que no se dispuso CMI por dilución en agar.

Tabla 12: Concordancia entre el método MICRoSTREP y de dilución en agar

Antibiótico	Concordancia	Discrepancia menor	Dm 1 dilución	Dm 2 diluciones	Dm > 2 diluciones	Discrepancia importante	Discrepancia muy importante
Penicilina	109 (77,8%)	31 (5,7%)	28	3		1 (intermedio) (0,7%)	
Amoxicilina	117 (83%)	24(17%)	22	2			
Cefotaxima	130 (92,2%)	11 (7,8%)	11				
Eritromicina	140 (99,2%)	1 (0,7%)	1				
Levofloxacino	114 (80,8%)	26 (18,4%)	26			1 (intermedio) (0,7%)	
Vancomicina	140 (99,2%)	1 (0,7%)	1				

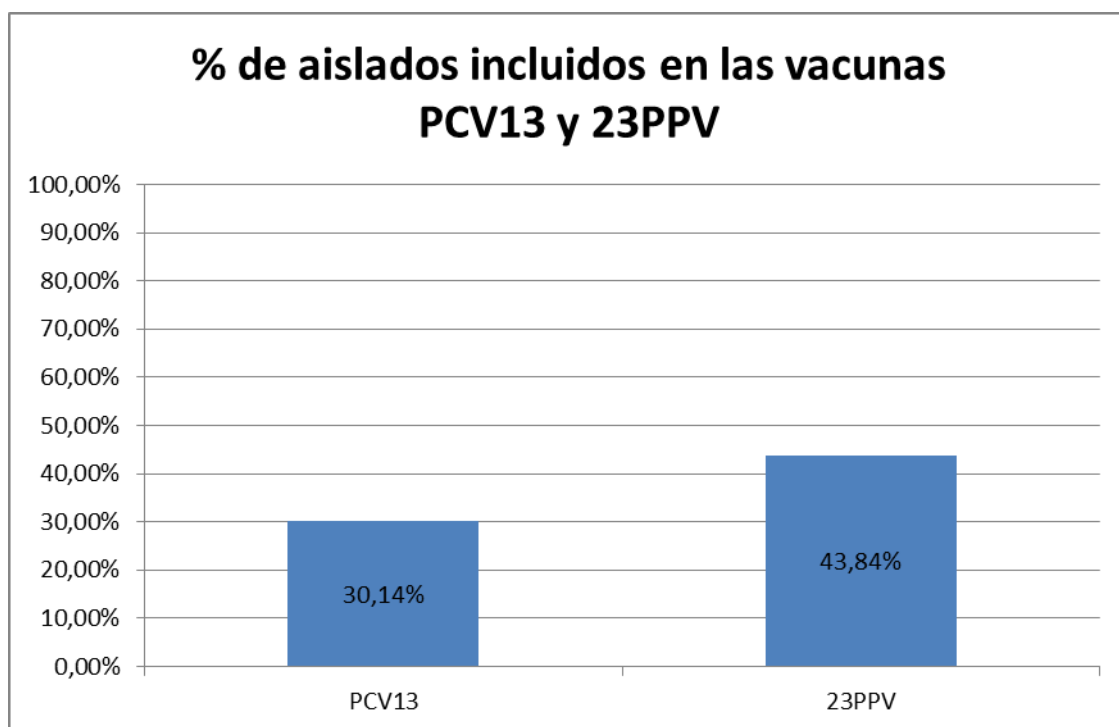
REFLEJO DE LA VACUNACIÓN SOBRE LOS SEROTIPOS CIRCULANTES EN ENFERMEDAD RESPIRATORIA.

Respecto al análisis del reflejo de la vacunación sobre la aparición y circulación de los diferentes serotipos de neumococo, encontramos que la distribución de los serotipos de la vacuna fue 44 aislados estaban incluidos en la vacuna PCV13 y 64 aislados estaban incluidos en la vacuna 23PPV. 30,1% de los aislados estaban contenidos en la vacuna PCV13 y 45,2% de los aislados estaban incluidos en la vacuna para PPV23.

En las tablas 13 y 14 a continuación se muestra el total de aislados de cada serotipo incluidos en cada vacuna.

Tabla 13: serotipo incluido en la vacuna		
PCV13	Total	%
1	3	2,05%
3	14	9,59%
4		0,00%
5		0,00%
6A	3	2,05%
6B	1	0,68%
7F	3	2,05%
9V	1	0,68%
14	1	0,68%
18C		0,00%
19A	9	6,16%
19F	8	5,48%
23F	1	0,68%

Tabla 14: serotipo incluido en la vacuna		
23PPV	Total	%
1	3	2,05%
2		0,00%
3	14	9,59%
4		0,00%
5		0,00%
8	1	0,68%
14	1	0,68%
10A	2	1,37%
11A	6	4,11%
12F	1	0,68%
17F	2	1,37%
19A	9	6,16%
19F	8	5,48%
22F	4	2,74%
23F	1	0,68%
6A		0,00%
6B	1	0,68%
7F	3	2,05%
9N	1	0,68%
9V	1	0,68%
20		0,00%
33F		0,00%
15B	6	4,11%



DISCUSIÓN

La enfermedad neumocócica supone un importante problema de salud entre la población adulta. Cerca de 1,6 millones de personas mueren anualmente por infecciones asociadas a *S. pneumoniae*^{38, 39}.

El riesgo de enfermedad neumocócica aumenta con la edad, pero el riesgo se incrementa más rápidamente después de los 50 años⁴². Dentro del análisis consideramos importante analizar si los aislados eran menores o mayores de 65 años, ya que en países europeos diferentes estudios muestran que las incidencias de ENI varían ampliamente según la edad.

En nuestro estudio, la edad media en enfermedad invasiva fue de 56,05 años, y en los casos en enfermedad respiratoria fue de 57,7 años. En ambos casos la mayor parte de los aislados tenían una edad superior a 65 años. Otras publicaciones destacan que la enfermedad se incrementa después de la edad de 65 años⁴³ ya que se ha demostrado que la edad en sí es un factor de riesgo para la enfermedad, probablemente debido a la disminución de la función del sistema inmunitario^{44, 45} y las enfermedades de base más EPOC.

De los 80 pacientes que tuvieron bacteriemia 34 (42,5%) presentaron neumonía. Se estima que por 3 a 4 casos de bacteriemia neumocócica se produce un caso de neumonía bacteriémica⁸.

El riesgo de desarrollar enfermedad neumocócica es más frecuente y más mortal en personas con ciertas condiciones médicas subyacentes⁴⁶. Resultados encontrados en la literatura indican que los adultos con diabetes, enfermedades del corazón, o enfermedad pulmonar crónica tenían un riesgo de enfermedad neumocócica invasiva 3-6 veces mayor, en comparación con el adulto sano. En nuestro trabajo encontramos que tanto para la enfermedad invasiva como para la enfermedad respiratoria las principales patologías de base al momento del ingreso fueron la neumonía y el EPOC. En la enfermedad invasiva la tercera enfermedad fue VIH, mientras que en la enfermedad respiratoria la tercera enfermedad fue la bronquiectasia.

Al comparar con estudios similares, los adultos con condiciones severamente inmunocomprometidas, incluyendo cáncer de órgano sólido⁴⁷ o hematológico o

con VIH / SIDA⁴⁸, tenían muy alta incidencia de la enfermedad neumocócica invasiva como en nuestro caso.

En relación con la estacionalidad, la enfermedad invasiva en adultos alcanza un pico en el medio de invierno⁴⁹, aspecto que confirmamos en nuestro estudio, ya que los meses del año con mayor número de casos observados fueron febrero y marzo, tanto en enfermedad invasiva como en respiratoria. En ningún periodo se observó un serotipo prevalente. Nuestra información coincide con el informe de enfermedad invasiva por neumococo en Aragón años 2000-2012, emitido por la dirección general de salud pública por la sección de vigilancia epidemiológica. Los casos se distribuyen con estacionalidad invernal, coincidiendo con los meses más fríos, la incidencia es mayor en las primeras y últimas cuatro semanas del año.

En 2006, la letalidad en Europa varió de 6,5 % a 20 % dependiendo del país de que se trate⁵⁰. En la comunidad de Aragón la única forma de enfermedad neumocócica invasora que se recoge como enfermedad de declaración obligatoria (EDO) de manera individualizada y automatizada desde el año 2007 es la meningitis⁵¹.

En el periodo analizado en nuestro hospital durante los años 2011-2013 se han producido 13 fallecimientos en el total de la población estudiada, lo que supone una mortalidad global del 5,7% a causa de infección por *S.pneumoniae*.

Valorados de forma independiente, el 7,5% del total de pacientes evaluados durante este periodo fallecieron a causa de enfermedad invasiva, todos mayores de 65 años y la mitad de ellos inmunocomprometidos y no se observa un predominio de ningún serotipo.

A causa de enfermedad respiratoria el 4,8% del total de pacientes evaluados durante este periodo fallecieron. Cifras ligeramente inferiores a las encontradas en la Literatura donde se asocia una mortalidad entre el 6-24%^{34, 52}. No se observó ningún serotipo predominante.

Al analizar los serotipos implicados en las defunciones y valorando los datos en conjunto se observa que los serotipos que se repiten con más frecuencia en enfermedad respiratoria como en enfermedad invasiva son el 3 y 6A y es mayor la mortalidad en hombres que en mujeres, tal como lo describe la

literatura, de igual modo también estudios han demostrado que el serotipo 3, sumado a factores de riesgo tales como estar inmunodeprimido y tener enfermedad pulmonar obstructiva se asocian significativamente con la mortalidad⁵³, tal como lo encontramos en nuestro análisis.

En relación con la prevalencia de serotipos en ENI fueron 3 (15 %), 7F (10 %), 19A (8,8 %) y 6C (6,3 %) y en los pacientes menores de 5 años de edad tuvieron un mayor riesgo de enfermedad por el serotipo 19A.

Pese que el serotipo 19A, es el más común en enfermedad invasiva según la literatura en todos los grupos de edad, en nuestro estudio encontramos que es el 3, aunque si coincidimos que es el más aislado en la población menor de 5 años.

La diversidad de serotipo fue mucho mayor en las muestras respiratorias, tal como lo describe la literatura⁴².

Llamo la atención que el serotipo 11A se encontró tanto en muestra respiratoria como en invasiva ya que es uno de los serotipos que son raramente asociados con la enfermedad neumocócica⁴².

Es importante analizar si existe relación entre determinados serotipos y patrones de resistencia y sensibilidad antibiótica, determinados por el estudio de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) para los principales antibióticos β -lactámicos y glicopéptidos, por su implicación en Salud pública.

La enfermedad neumocócica supone un importante problema de salud entre la población adulta⁵⁴, más aún cuando en los últimos años, *S. pneumoniae* ha desarrollado resistencia a muchos antibióticos empleados habitualmente su tratamiento⁵⁵,³⁹. En nuestro caso las invasivas son más sensibles.

El estudio de sensibilidad antibiótica resulta esencial para la instauración de un tratamiento antimicrobiano. Para ello es indispensable evaluar en el laboratorio la respuesta del *S. pneumoniae* a uno o varios antimicrobianos, traduciendo, en una primera aproximación, su resultado como factor predictivo de la eficacia clínica.

A pesar de la diversidad de serotipos el 3, 7F y 19 representa 1/3 del total en nuestro estudio.

La mayoría de los aislados meníngeos mostraron ser sensibles a la penicilina.

La tasa global de resistencia a la penicilina en aislados invasivos como no invasivos fue del 2,2%, mientras que la tasa de resistencia a la eritromicina fue del 34,5%. Esta situación es similar a la encontrada en otros estudios⁵⁶.

La tasa de resistencia a los antibióticos, puede influir en la supervivencia y se ha demostrado que se asocia con los serotipos de neumococo, muchas de las cuales son causas cada vez más comunes en ENI^{57, 58, 59}.

A nivel mundial los serotipos aislados en muestras respiratorias han mostrado más alto nivel de resistencia a penicilina y a eritromicina⁶⁰.

A la hora de comprobar si la resistencia a los antibióticos tiene que ver o no con el serotipo, en ambos tipos de enfermedad se comprobó que no existe relación para la penicilina ($p > 0,05$) pero sí para la eritromicina ($p < 0,05$). En enfermedad invasiva había mayor resistencia para la eritromicina en los serotipos 19A, 6C, 15A y 24F y en enfermedad respiratoria la mayor resistencia se encontraba para los serotipos 6C, 19F, 19A, no tipable, 11A, 15C, 24F y 15A.

De los serotipos con mayor resistencia a penicilina y eritromicina en enfermedad invasiva la mayor parte no están incluidos en las vacunas. En la enfermedad respiratoria la mayor parte tampoco están incluidos en las vacunas. Esto es lógico dado que al estar protegidos por las vacunas los pacientes no reciben antibióticos y por lo tanto no ganan resistencia a los mismos.

Los serotipos varían en su capacidad para causar enfermedad invasiva y resistencia a los antibióticos⁴².

La reducción en el uso de antibióticos sigue siendo fundamental para las estrategias de contención resistencia a los antibióticos⁶¹.

Al comparar los resultados de sensibilidad antibiótica obtenidos según la determinación de las CMIs por MICroSTREP y dilución en agar, encontramos que el método de dilución en agar para determinar la sensibilidad antibiótica es una técnica que está bien establecida, sin embargo, estudios recientes realizando el método de dilución en agar no han sido realizados ni revisados por el subcomité⁶²

En este estudio el método de dilución en agar, se consideró como el método de referencia. Los resultados obtenidos de sensibilidad antibiótica por método de microdilución en agar por el sistema MICroSTREP plus MicroScan mostraron concordancia de 98,2% con los obtenidas por el CNM ISCIII. No encontramos referencias bibliográficas que comparen un único sistema comercial con el método de dilución en agar. La comparación de MICroSTREP con CLSI muestra un alto grado de acuerdo entre los resultados⁷⁵.

Cuando la determinación de la CMI tiene una finalidad clínica, los métodos de dilución se consideran de referencia para la determinación cuantitativa de la actividad de los antimicrobianos. Son los métodos indicados cuando, además de la actividad inhibitoria, se quiere determinar también la actividad bactericida. Al comparar los resultados mediante los dos métodos, observamos las mismas MIC.

El sistema de microdilucion en caldo es técnicamente más complejo y casi siempre más caro; sin embargo ofrece la ventaja de proporcionar resultados equiparables con el método de referencia.

La interpretación de estos resultados debe considerar también aspectos farmacocinéticas, posibles mecanismos de resistencia y datos de eficacia clínica. De esta forma se pueden distinguir tres categorías clínicas: sensible, intermedio y resistente en menor tiempo.

-Al analizar el reflejo de la vacunación sobre la aparición y circulación de los diferentes serotipos de neumococo es importante destacar que entre las estrategias para prevenir la ENI se encuentra la vacunación, aunque las coberturas vacunales en este grupo son más bajas de lo deseable.

El uso de estos diferentes vacunas ha resultado en reducciones de serotipo específico en la enfermedad neumocócica invasiva (ENI) tal como lo observamos en nuestro estudio⁶⁴.

Estudios de ENI y ER en los años posteriores a la introducción de la vacunación antineumocócica infantil han proporcionado más pruebas indirectas de la relación entre el contacto de niños y la enfermedad de adultos ; casos de ENI identificado en los Estados Unidos han mostrado una reducción en las tasas de enfermedad de adultos en los años posteriores a la vacunación antineumocócica de la niñez⁶⁵ Y grandes análisis de bases de datos han

notado una disminuir en las admisiones de neumonía en todos los grupos de edad siguientes a la introducción de vacunación⁶⁶.

Los picos de enfermedades neumocócicas anuales en los adultos, que parecían coincidiendo con los períodos de vacaciones de invierno, cuando el contacto social cercano con los niños era probable que se produjera, en gran parte han sido eliminados tras la introducción de la vacuna neumococo en la infancia⁶⁷; los niños se cree que actúan como un depósito para la propagación de la enfermedad neumocócica en la comunidad debido a la alta tasas de colonización nasofaríngea en esta población^{68, 69}.

Como analizamos en nuestro estudio la presencia de patologías subyacentes en el adulto⁴⁶ hacen que el riesgo de infección sea mayor y su evolución peor. Este es el caso de los pacientes inmunodeprimidos, pacientes con VIH, cáncer, tumores hematológicos o enfermedad renal crónica entre otras; pero también las personas inmunocompetentes, pero con patologías o factores de riesgo asociados, como enfermedades crónicas respiratorias, hepáticas o cardiovasculares, diabetes, tabaquismo o alcoholismo.

Teniendo en cuenta los pacientes en estos grupos de a riesgo, 16 sociedades científicas españolas defienden que la llegada de la primera vacuna conjugada autorizada para los adultos, la vacuna antineumocócica conjugada 13 valente (Prevenar 13), es una mejora en las estrategias de prevención para las personas inmunocomprometidas frente a la enfermedad neumocócica invasiva, y así lo han puesto de manifiesto en el primer 'Documento de consenso sobre la vacunación antineumocócica en el adulto con patología de base'⁷⁰. Entre las estrategias para prevenir la ENI se encuentra la vacunación, aunque las coberturas vacunales en este grupo son más bajas de lo deseable. Actualmente, existen 2 vacunas disponibles para el adulto. La vacuna polisacárido (VNP23), que se emplea en mayores de 2 años de edad desde hace décadas, es la que mayor número de serotipos (23) incluye, pero no genera memoria inmunitaria, los niveles de anticuerpos disminuyen con el tiempo, provoca un fenómeno de tolerancia inmunitaria y no actúa sobre la colonización nasofaríngea. La vacuna conjugada (VNC13) puede emplearse desde lactantes hasta la edad adulta (la indicación en mayores de 18 años ha recibido la aprobación de la Agencia Europea del Medicamento en julio de 2013) y genera una respuesta inmunitaria

más potente que la VNP23 frente a la mayoría de los 13 serotipos en ella incluidos.

La incidencia de serotipo 6A, pero no serotipo 19A, se puede reducir por la PCV7.

Por ahora, la vacunación contra el neumococo sigue siendo una parte importante dentro de las estrategias de prevención para la enfermedad neumocócica.

▪ CONCLUSIONES

1. Las enfermedades provocadas por *S. pneumoniae* constituyen un problema importante de salud pública
2. Entre las enfermedades graves causadas por *S. pneumoniae* están la meningitis, bacteriemia y neumonía.
3. Enfermedades concomitantes subyacentes aumentan el riesgo de ENI y su evolución.
4. La tasa de resistencia a los antimicrobianos de *S. pneumoniae* se debe tener en cuenta, y la aparición de aislados con un mecanismo de resistencia a los macrólidos es alarmante.
5. La prevención de la infección neumocócica mediante vacunación puede contribuir positivamente en la disminución de las resistencias de *S.pneumoniae* a los antibióticos que se venía constatando antes de la introducción de la vacunación conjugada infantil.
6. Los estudios de vigilancia epidemiológica son necesarios para documentar infecciones neumocócicas y distribución de los serotipos. Estos estudios proporcionan datos importantes sobre el impacto de los programas de vacunación en nuestro sector hospitalario y nos ayuda a determinar la utilidad (cobertura/serotipo) de las nuevas VNC10, VNC13 en los próximos años.

Anexo I
Tablas de Datos

Tabla 1. Enfermedad neumocócica invasiva. Serotipos por edad.

Serotipos	<65 años	Porcentaje	>65 años	Porcentaje	Total	Porcentaje
3	2	5,26%	10	23,81%	12	15,00%
7F	4	10,53%	4	9,52%	8	10,00%
19A	3	7,89%	4	9,52%	7	8,75%
6C	4	10,53%	1	2,38%	5	6,25%
1	3	7,89%	1	2,38%	4	5,00%
10A	4	10,53%			4	5,00%
15A	2	5,26%	2	4,76%	4	5,00%
4	1	2,63%	2	4,76%	3	3,75%
16F	2	5,26%	1	2,38%	3	3,75%
23B	3	7,89%			3	3,75%
24F	2	5,26%	1	2,38%	3	3,75%
9N	1	2,63%	2	4,76%	3	3,75%
14	1	2,63%	1	2,38%	2	2,50%
22F	1	2,63%	1	2,38%	2	2,50%
23A	1	2,63%	1	2,38%	2	2,50%
24A			2	4,76%	2	2,50%
6A			2	4,76%	2	2,50%
8	1	2,63%			1	1,25%
31			1	2,38%	1	1,25%
38			1	2,38%	1	1,25%
11A			1	2,38%	1	1,25%
12F			1	2,38%	1	1,25%
17F			1	2,38%	1	1,25%
19F	1	2,63%			1	1,25%
23F	1	2,63%			1	1,25%
6B	1	2,63%			1	1,25%
9V			1	2,38%	1	1,25%
No tipable			1	2,38%	1	1,25%

Tabla 2. Enfermedad al momento del ingreso.

Enfermedad al momento del ingreso	
NEUMONÍA	34
EPOC	13
VIH	5
CANCER PULMON	3
PERITONITIS	2
LUES	2
LEUCEMIA	2
GASTROENTERITIS	2
DIABETES	2
TX RENAL	1
TBC	1
PIELONEFRITIS	1
IRC	1
HEP B ESQUIZOFRENIA NEUMONIA	1
ESPLENECTOMISADO	1
DERRAME PLEURAL	1
DERRAME PLEURAL	1
CARDIOPATIA NEUMONIA	1
CANCER MAMA MET PULMONAR	1
CANCER COLON EPOC	1
ARTRITIS REUMATOIDEA NEUMONIA	1
ALCOHOLISMO	1
ACV	1
ABSCESO PERIAMIGDALINO	1

Tabla 3. Evolución mensual de los casos estudiados.

MES	2011	2012	2013	Total por mes
ENERO	0	4	1	5
FEBRERO	6	4	6	16
MARZO	4	3	3	10
ABRIL	1	4	4	9
MAYO	2	4	3	9
JUNIO	2	3	2	7
JULIO	2	0	1	3
AGOSTO	0	0	0	0
SEPTIEMBRE	2	0	3	5
OCTUBRE	1	3	3	7
NOVIEMBRE	2	3	-	5
DICIEMBRE	2	2	-	4
	24	30	26	80

Tabla 4. Enfermedad neumocócica invasiva en bacteriemia. Serotipos por edad.

Serotipos	<65 años	Porcentaje	>65 años	Porcentaje	Total	Porcentaje
3	2	6,90%	10	22,22%	12	16,22%
7F	3	10,34%	5	11,11%	8	10,81%
19A	2	6,90%	4	8,89%	6	8,11%
6C	2	6,90%	3	6,67%	5	6,76%
1	3	10,34%	1	2,22%	4	5,41%
10A	3	10,34%	1		4	5,41%
15A	2	6,90%	2	4,44%	4	5,41%
4	1	3,45%	2	4,44%	3	4,05%
16F	2	6,90%	1	2,22%	3	4,05%
9N	1	3,45%	2		3	4,05%
14	1	3,45%	1	2,22%	2	2,70%
22F	1	3,45%	1	2,22%	2	2,70%
23A	1	3,45%	1	2,22%	2	2,70%
23B	2	6,90%		0,00%	2	2,70%
24A		0,00%	2	4,44%	2	2,70%
24F			2	4,44%	2	2,70%
6A			2	4,44%	2	2,70%
8	1	3,45%			1	1,35%
31			1	2,22%	1	1,35%
11A			1	2,22%	1	1,35%
12F			1	2,22%	1	1,35%
23F	1			0,00%	1	1,35%
6B	1			0,00%	1	1,35%
9V		0,00%	1		1	1,35%
No tipable		0,00%	1		1	1,35%
Total	29		45		74	

Tabla 5. Enfermedad neumocócica invasiva en meningitis. Serotipos por edad.

Serotipos	<65 años	Porcentaje	>65 años	Porcentaje	Total	Porcentaje
17F			1	50,00%	1	16,67%
19A	1	25,00%			1	16,67%
19F	1	25,00%			1	16,67%
23B	1	25,00%			1	16,67%
24F	1	25,00%			1	16,67%
38			1	50,00%	1	16,67%
Total	4		2		6	

Tabla 6. Enfermedad neumocócica respiratoria. Serotipos por edad.

Serotipos	<65 años	Porcentaje	>65 años	Porcentaje	Total	Porcentaje
3	5	8,33%	9	10,59%	14	9,59%
6C	2	3,33%	11	12,94%	13	8,90%
19A	7	11,67%	2	2,35%	9	6,16%
No tipable	7	11,67%	2	2,35%	9	6,16%
31	2	3,33%	6	7,06%	8	5,48%
19F	2	3,33%	6	7,06%	8	5,48%
11A	2	3,33%	4	4,71%	6	4,11%
15B	2	3,33%	4	4,71%	6	4,11%
15C	1	1,67%	5	5,88%	6	4,11%
35B	2	3,33%	4	4,71%	6	4,11%
21	2	3,33%	3	3,53%	5	3,42%
34		0,00%	4	4,71%	4	2,74%
16F	2	3,33%	2	2,35%	4	2,74%
22F	1	1,67%	3	3,53%	4	2,74%
23B	3	5,00%	1	1,18%	4	2,74%
24F	2	3,33%	2	2,35%	4	2,74%
1	3	5,00%		0,00%	3	2,05%
15A	2	3,33%	1	1,18%	3	2,05%
6A	1	1,67%	2	2,35%	3	2,05%
7F	2	3,33%	1	1,18%	3	2,05%
10A	1	1,67%	1	1,18%	2	1,37%
11F		0,00%	2	2,35%	2	1,37%
17F	2	3,33%		0,00%	2	1,37%
33F		0,00%	2	2,35%	2	1,37%
35F	2	3,33%		0,00%	2	1,37%
8	1	1,67%		0,00%	1	0,68%
13		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
14	1	1,67%		0,00%	1	0,68%
28		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
29		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
12F	1	1,67%		0,00%	1	0,68%
18A		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
23A	1	1,67%		0,00%	1	0,68%
23F		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
24A		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
6B		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
9N		0,00%	1	1,18%	1	0,68%
9V	1	1,67%		0,00%	1	0,68%

Tabla 7. Enfermedad al momento del ingreso (Enfermedad Respiratoria).

Enfermedad al momento del ingreso	
NEUMONIA	71
EPOC	21
BRONQUECTACIA	19
CANCER PULMON	7
DERRAME PERICARDICO SEVERO	4
TBC	4
BRONQUIOLITIS	3
VIH	2
AMIGDALITIS	1
ASMA	1
ACV	1
TRANSPLANTE DE MEDULA OSEA	1
INSUFICIENCIA RENAL AGUDA	1
MIELOMA MULTIPLE	1
CARDIOPATIA	1
PURPURA TROMBOCITOPENICA	1
SHOCK SEPTICO RESPIRATORIO	1

Tabla 8. Evolución mensual de los casos estudiados.

MES	2011	2012	2013	Total por mes
ENERO	13	3	10	26
FEBRERO	13	3	7	23
MARZO	12	12	2	26
ABRIL	15	2		17
MAYO	19	7		26
JUNIO		4		4
JULIO		1		1
AGOSTO				
SEPTIEMBRE		1		1
OCTUBRE		5		5
NOVIEMBRE		7		7
DICIEMBRE		10		10
	72	55	19	146

BIBLIOGRAFIA

1. Mitchell TJ. *Streptococcus pneumoniae*: infection, inflammation and disease. Adv Exp Med Biol. 2006; 582:111-24
2. Paterson GK, Mitchell TJ. Innate immunity and the pneumococcus. Microbiology. 2006; 152:285-93.
3. Watson DA, Musher DM. Interruption of capsule production in *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 by insertion of transposon Tn916. Infect Immun. 1990; 58:3135-38
4. Musher DM. *Streptococcus pneumoniae*. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Edited by Gerald L. Mandell, John E. Bennett, Raphael Dolin.—7th ed. Philadelphia. 2010. 200: 2623-42, 3870-72, 3930-31
5. Angel CS, Ruzek M, Hostetter MK. Degradation of C3 by *Streptococcus pneumoniae*. J Infect Dis. 1994; 170:600-08
6. Boulnois GJ. Pneumococcal proteins and the pathogenesis of disease caused by *Streptococcus pneumoniae*. J Gen Microbiol. 1992; 138:249-59
7. Paton JC, Berry AM, Lock RA. Molecular analysis of putative pneumococcal virulence proteins. Microb Drug Resist. 1997; 3:1-10
8. Van Dam JE, Fleer A, Snippe H. Immunogenicity and immunochemistry of *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharides. Antonie Van Leeuwenhoek. 1990; 58:1-47
9. Kuch A, Sadowy E, Skoczyńska A, Hryniewicz W. First report of *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D isolates from invasive infections. Vaccine. 2010; 7:6406-07
10. Jefferies JM, Smith A, Clarke SC, et al. Genetic analysis of diverse disease-6 diversity within serotypes and capsule switching. J Clin Microbiol. 2004; 42:5681-88
11. Bogaert D, de Groot R, Hermans PWM. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. Lancet Infect Dis. 2004; 4:144–54
12. Ghaffar F, Friedland IR and McCracken GH. Dynamics of nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*. Pediatr Infect Dis 1999; 18:638-46

13. Lynch JP 3rd, Zhanell GG. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology, risk factors, and strategies for prevention. *Semin Respir Crit Care Med*. 2009; 30:189-209
14. O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP, Henkle E, Deloria-Knoll M, McCall N, et al. Hib and Pneumococcal Global Burden of Disease Study Team. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet*. 2009; 12; 374:893-902
15. Austrian R, Gold J. Pneumococcal bacteremia with especial referencie to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med*. 1964; 60:759-76
16. WHO. 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine WHO position paper. *Weekly Epidemiological Record* 2008; Vol. 83, nº 42: 373-84.<http://www.who.int/wer> 2008 (visto en julio de 2014)
17. Pebody RG, Hellenbrand W, D'Ancona F, Ruutu P. Pneumococcal disease surveillance in Europe. *Euro Surveill* 2006; 11:171-78
18. Lazarus R, Clutterbuck E, Yu LM, Bowman J, Bateman EA, Diggle L, et al. Randomized Study Comparing Combined Pneumococcal Conjugate and Polysaccharide Vaccination Schedules in Adults. *Clin Infect Dis*. 2011; 52:736-42
19. Brandt CT, Holm D, Liptrot M, Ostergaard C, Lundgren JD, Frimodt-Møller et al. Impact of bacteremia on the pathogenesis of experimental pneumococcal meningitis. *J Infect Dis*. 2008; 197:235-44
20. Rose L, Shivshankar P, Hinojosa E, et al. Antibodies against PsrP, a novel *Streptococcus pneumoniae* adhesin, block adhesion and protect mice against pneumococcal challenge. *J Infect Dis*. 2008; 198:375-83
21. Ardanuy C, Marimón JM, Calatayud L, Giménez M, Alonso M, Grau I, et al. Epidemiology of Invasive Pneumococcal Disease in Older People in Spain (2007–2009): Implications for Future Vaccination Strategies *PLoS One*. 2012; 7: 43619
22. Fenol Comes A. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. Cambios recientes en la epidemiología del neumococo. XX jornadas internacionales sobre actualización en vacunas, Hospital XII de octubre, 23 y 24 febrero 2012

23. Black S, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2000; 19:187–95
24. Whitney CG, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM, Lynfield R, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein polysaccharide conjugate vaccine. *New England Journal of Medicine*. 2003; 348: 1737–46
25. Pilishvili T, Lexau C, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network, et al. Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *Journal of Infectious Diseases* 2010; 201:32–41
26. Singleton RJ, Hennessy TW, Bulkow LR, Hammitt LL, Zulz T, Hurlburt DA, et al. Invasive pneumococcal disease caused by nonvaccine serotypes among Alaska native children with high levels of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine coverage. *JAMA*. 2007; 297:1784–92
27. Hicks L, Harrison L, Flannery B, Hadler JL, Schaffner W, Craig AS, et al. Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998–2004. *J Infect Dis*. 2007; 196:1346–54
28. Croxtall JD, Keating GM. Pneumococcal polysaccharide protein D-conjugate vaccine (Synflorix; PHiD-CV). *Paediatr Drugs*. 2009; 11:349–57
29. Pebody RG, Hellenbrand W, D’Ancona F, Ruutu P; European Union funded Pnc-EURO contributing group. Pneumococcal disease surveillance in Europe. *Euro Surveill*. 2006; 11: 171-8
30. Lynch JP, Zhanell GG. *Streptococcus pneumoniae*: epidemiology, risk factors, and strategies for prevention. *Semin. Respir. Crit. Care Med* 2009; 30: 189-209
31. Jackson LA, Janoff EN. Pneumococcal vaccination of elderly adults: new paradigms for protection. *Clin Infect Dis* 2008; 47: 1328-38
32. Obaro SK. The new pneumococcal vaccine. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 623-33
33. Feikin DR, Klugman KP, Facklam RR, Zell ER, Schuchat A, Whitney CG; Active Bacterial Core surveillance/Emerging Infections Program Network.

Increased prevalence of pediatric pneumococcal serotypes in elderly adults. Clin Infect Dis 2005; 41: 481-7

34. Rodrigo C, Bewick T, Sheppard C, Greenwood S, Macgregor V, Trotter C, et al. Pneumococcal serotypes in adult non-invasive and invasive pneumonia in relation to child contact and child vaccination status. Thorax. 2014; 69:168-73

35. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement. Wayne,PA: CLSI Document M100-S21; 2011

36. Fenoll A., Jado I, Vicioso D, Casal J. Dot Blot Assay for the Serotyping of Pneumococci. Journal Of Clinical Microbiology. 1997; 35:764-66

37. Lund, E., and J. Henrichsen. Laboratory diagnosis, serology and epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*. Methods Microbiol. 1978; 12:241-62

38. Centers for Disease Control and Prevention. Pneumococcal disease. In: Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, eds. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. 12 ed. Washington, DC: Public Health Foundation; 2011:233-48

39. Mayanskiy N, Alyabieva N, Ponomarenko O, Lazareva A, Katosova L, Ivanenko A, et al. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia. International Journal of Infectious Diseases; 2014:20:58–62

40. Park S, Nahm MH. Older Adults Have a Low Capacity To Opsonize Pneumococci Due to Low IgM Antibody Response to Pneumococcal Vaccinations. Infect. Immun. 2011; 79:314–20

41. Musher DM. *Streptococcus pneumoniae* Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Mandell, Douglas y Bennett. 6th ed. Madrid: Elsevier España SA; 2006

42. Hackel M, Lascols C, Bouchillon S, Hilton B, Morgenstern D, Purdy J. Serotype prevalence and antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates among global populations. Vaccine. 2013; 31:4881-87

43. Butler JC, Schuchat A. Epidemiology of pneumococcal infections in the elderly. Drugs Aging 1999; 15:11–9

44. Jassens J, Krause K. Pneumonia in the very old. *Lancet Infect Dis*. 2004; 4:112–24
45. Ortqvist A, Hedlund J, Kalin M. *Streptococcus pneumoniae* : epidemiology, risk factors, and clinical features. *Semin Respir Crit Care Med*. 2005; 26:563-74.
46. Kyaw MH, Rose CE, Fry AM, Singleton JA, Moore Z, Zell ER, et al. The Influence of Chronic Illnesses on the Incidence of Invasive Pneumococcal Disease in Adults. *JID*. 2005; 192:377–86
47. Kyaw MH, Christie P, Clarke SC, et al. Invasive pneumococcal disease in Scotland, 1999–2001: use of record linkage to explore associations between patients and disease in relation to future vaccination policy. *Clin Infect Dis* 2003; 37:1283–91
48. Nuorti JP, Butler JC, Gelling L, Kool JL, Reingold AL, Vugia DJ. Epidemiologic relation between HIV and invasive pneumococcal disease in San Francisco County, California. *Ann Intern Med* 2000; 132:182–90
49. Kadioglu A, Weiser JN, Paton JC, Andrew PW. The role of *Streptococcus pneumoniae* virulence factors in host respiratory colonization and disease. *Nat Rev Microbiol*. 2008; 6:288-301
50. Pebody RG, Hellenbrand W, D’Ancona F, Ruutu P. on behalf of the European Union funded Pnc-EURO contributing group. Pneumococcal disease surveillance in Europe. *Euro Surveill* 2006; 11:171–8
51. Enfermedad invasiva por neumococo en Aragón Años 2000-2012 Dirección General de Salud Pública Servicio de Drogodependencia y Vigilancia en Salud Pública Sección de Vigilancia Epidemiológica Informe de situación de *S. pneumoniae*. Aragón 2000-2012
52. Breiman RF, Keller DW, Phelan MA, et al. Evaluation of the effectiveness of 23-valent pneumococcal capsular polysaccharide vaccine for HIV-infected adults. *Arch Intern Med* 2000; 160:2633–8
53. Gutiérrez MA, Varela A, Ordobás MA, Martín F, García N, Ramos B et al. Invasive pneumococcal disease: Association between serotype, clinical presentation and lethality. *Vaccine*. 2011; 29: 5740–46
54. Centers for Disease Control and Prevention. Pneumococcal disease. In: Atkinson W, Wolfe S, Hamborsky J, eds. *Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases*. 12 ed. Washington, DC: Public Health Foundation; 2011:233-48

55. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement. Wayne, PA: CLSI Document M100-S21; 2011
56. Mayanskiy N, Alyabieva N, Ponomarenko O, Lazareva A, Katosova L, Ivanenko A, et al. Serotypes and antibiotic resistance of non-invasive *Streptococcus pneumoniae* circulating in pediatric hospitals in Moscow, Russia. *Int J Infect Dis.* 2014;20:58-62
57. Kyaw MH, Lynfield R, Schaffner W, Craig AS, Hadler J, Reingold A. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *New England Journal of Medicine* 2006;354:1455–63
58. Jacobs MR, Good CE, Beall SB, Bajaksouzian S, Windau AR, Whitney CG. Changes in serotypes and antimicrobial susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* strains in Cleveland: a quarter century of experience. *Journal of Clinical Microbiology* 2008; 46:982–90
59. Farrell DJ, Klugman KP, Pichichero M. Increased antimicrobial resistance among nonvaccine serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in the pediatric population after the introduction of the 7-valent pneumococcal vaccine in the United States. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2007; 26:123–8
60. Linares J, Ardanuy C, Pallares R, Fenoll A. Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period. *Clinical Microbiology and Infection* 2010; 16:402–10
61. Dagan R. Impact of pneumococcal conjugate vaccine on infections caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15:16–20
62. Methods for antimicrobial susceptibility test for bacterial that grow aerobically; approved standard-ninth edition. CLSI Document M07-09 Vol 32, Nº 2;.Wayne PA: 2012: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014
63. Thornsberry C, Gavan TL. Automated procedures for antimicrobial susceptibility tests. In: Lennette EH, Balows AL, Hausler Jr WJ, Truant JP, editores. *Manual of Clinical Microbiology*. 3th ed. Washington, DC: ASM Press; 1980. p. 491–4
64. Domenech de Cellès M, Opatowski L, Salomon J, Varon E, Carbon C, Boëlle PY, Guillemot D. Intrinsic epidemic city of *Streptococcus pneumoniae*

depends on strain serotype and antibiotic susceptibility pattern. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2011; 55:5255–61

65. Pilishvili T, Lexau C, Farley MM, et al. Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis* 2010; 201:32–41

66. Simonsen L, Taylor RJ, Young-Xu Y, et al. Impact of pneumococcal conjugate vaccination of infants on pneumonia and influenza hospitalization and mortality in all age groups in the United States. *mBio* 2011; 2:00309–10

67. Walter ND, Taylor TH, Dowell SF, et al. Holiday spikes in pneumococcal disease among older adults. *N Engl J Med* 2009;361:2584–5

68. Regev-Yochay G, Dagan R, Raz M, et al. Association between carriage of *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in children. *JAMA* 2004; 292:716–20

69. Hussain M, Melegaro A, Pebody RG, et al. A longitudinal household study of *Streptococcus pneumoniae* nasopharyngeal carriage in a UK setting. *Epidemiol Infect* 2005; 133:891–8

70. Picazo JJ, González-Romo F, García Rojas A, Pérez-Trallero E, Gil Gregorio P, de la Cámara R et al. Documento de consenso “Consenso sobre la vacunación anti-neumocócica en el adulto con patología de base”. *Rev Esp Quimioter.* 2013; 26:232-252

71. Centers for Disease Control and Prevention. Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease--United States, 1998-2003. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 2005; 54:893-897

72. Centers for Disease Control and Prevention. Progress in introduction of pneumococcal conjugate vaccine worldwide, 2000-2008. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 2008; 57; 1148-1151

73. World Health Organization. 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. Position paper. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 83 (42), 373–384 (2008) [cited 2011 Feb 7]. <http://www.who.int/wer/2008/wer8342.pdf> (visto en julio de 2014)

74. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2010. Surveillance report. ECDC, Stockholm, Sweden, 2010 [cited 2011 Feb

23].http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1011_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe. Pdf (visto en julio de 2014)

75. Mittman SC, Huard RC, Della-Latta P, and Whittier S. Comparison of BD Phoenix to Vitek 2, MicroScan MICroSTREP, and Etest for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Streptococcus pneumoniae*. Journal Of Clinical Microbiology 2009; 3557–3561