

Enfermedad neumocócica invasiva en niños y adultos de hospitales de la ciudad de Guatemala después de la implementación de la vacuna antineumocócica, 2016 - 2019

Mario Melgar ^{1,2}, Ingrid Contreras ¹, Herberth Maldonado ¹, Maria Mercedes Vidal ², Nancy Pinillos ^{3,4}, Nancy Sandoval ⁴, Carlos Ruiz ⁵, Carlos Grazioso ³, Carmen Lucía Contreras ¹, Maria Renee Lopez ¹, Juan Carlos Romero ¹, John McCracken ¹

¹ Centro de Estudios en Salud, Universidad del Valle, Guatemala

² Departamento de Pediatría, Hospital Roosevelt, Guatemala

³ Departamento de Pediatría, Hospital General San Juan de Dios, Guatemala

⁴ Departamento de Medicina Interna, Hospital Roosevelt, Guatemala

⁵ Departamento de Medicina Interna, Hospital General San Juan de Dios, Guatemala

*Autor correspondiente: Mario Melgar, mariomelgart@gmail.com (MM)

RESUMEN: Antecedentes: En 2013, Guatemala incorporó la vacuna neumocócica conjugada 13 valente (PCV13) al calendario nacional de vacunación infantil. Se estableció una vigilancia de los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* tanto para la enfermedad neumocócica invasiva (ENI) como para la neumonía adquirida en la comunidad (NAC), tras la introducción de la vacuna en el país.

Métodos: Se incluyeron 1119 pacientes que cumplían los criterios de ENI y de NAC-CR (Neumonía adquirida en la comunidad confirmada por radiografía) entre el 1 de marzo de 2016 y el 31 de marzo de 2019. Se evaluó la incidencia de *Streptococcus pneumoniae* para los casos de sospecha de ENI y NAC-CR. En los casos que fueron positivos para *Streptococcus pneumoniae*, se determinó el serotipo mediante RT-PCR. Se revisó la incidencia del serotipo en ambas condiciones y en relación con el estado de vacunación y la edad.

Resultados: *Streptococcus pneumoniae* se confirmó mediante cultivo o PCR en el 20% (48 casos) y el 7% (36 casos) de los casos de ENI y CAP-CR, respectivamente. De las muestras confirmadas, se dispuso de un total de 81 muestras para serotipificación. Los

serotipos relacionados con la vacuna PCV13 más comúnmente detectados fueron los serotipos 3 (20 casos, 23%) y 19A (8 casos, 9,5%). El serotipo no relacionado con la vacuna más común fue el 2 (9 casos, 10%). Hubo 25 muestras positivas para *Streptococcus pneumoniae* (30%) que no tenían un serotipo capsular identificable por nuestro ensayo de PCR. Se encontraron serotipos relacionados con la vacuna en 7 de los 37 pacientes menores de 5 años con al menos una dosis de vacuna. De los 7 casos, 5 eran del serotipo 3. Se detectaron 10 casos de infección por doble serotipo, siendo los serotipos 14 y 3 la combinación más frecuente.

Conclusiones: La PCR mejora la detección de *Streptococcus pneumoniae* y permite la serotipificación. El serotipo 3 fue el más común entre los individuos vacunados y no vacunados. Después del serotipo 3, los serotipos más comunes fueron el 2 y el 19A. El serotipo 3 fue el más prevalente en las infecciones duales.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad neumocócica invasiva, Guatemala, vacuna antineumocócica.

Invasive Pneumococcal Disease in Children and Adults from Guatemala City Hospitals after Pneumococcal Vaccine implementation, 2016-2019

ABSTRACT: (*Background:* In 2013, Guatemala added PCV13 to the national immunization schedule for children. We established a surveillance for *Streptococcus pneumoniae* serotypes both for IPD (Invasive Pneumococcal Disease) and CAP (Community acquired pneumonia), after the introduction of the vaccine in the country.

Methods: We included 1119 patients who met the criteria for IPD and for CXR-CAP (Confirmed X-Ray - CAP) between March 1st 2016 and March 31 2019. We assessed the incidence of *Streptococcus pneumoniae* for cases of suspected IPD and CXR-CP. In the cases that were positive for *Streptococcus pneumoniae*, the serotype was determined using RT-PCR. The serotype incidence was reviewed in both conditions, and according to vaccination status and age.

Results: Of the 1119 patients: 249 (22.25%) had suspected ENI and 870 (77.75%) had NAC-CR. Of the 249 cases of ENI, meningitis (52%) and sepsis (21%) constituted 73% of the cases. *Streptococcus pneumoniae* was confirmed by culture or PCR in 20% (48/244) and 7% (36/486) of cases of ENI and NAC-CR, respectively. There were 81 samples for serotyping, the most common vaccine-related (i.e., covered by vaccination) serotypes were 3 (n=20) and 19A (n=8). The most common non-vaccine-related serotype was 2 (n=9). Twenty-five *Streptococcus pneumoniae*-positive samples (30%) did not have a capsular serotype identifiable by our PCR assay.

Conclusions: PCR improves *Streptococcus pneumoniae* detection and allows for serotyping. Serotype 3 was the most common serotype among vaccinated and non-vaccinated individuals. After serotype 3, the most common serotypes were 2 and 19A.

KEY WORDS: Invasive Pneumococcal Disease, Guatemala, Pneumococcal Disease.

Introducción

Streptococcus pneumoniae sigue siendo uno de los patógenos humanos más importantes y puede causar una serie de enfermedades. El término Enfermedad Neumocócica Invasiva (ENI) se ha utilizado para englobar algunas de las enfermedades más importantes causadas por esta bacteria, como la meningitis y la sepsis [1]

La neumonía adquirida en la comunidad (NAC) es una de las principales causas de muerte en todo el mundo, tanto en

niños como en adultos. *Streptococcus pneumoniae* es el patógeno más comúnmente asociado a esta enfermedad, y también es un agente común presente en otras enfermedades. Las vacunas antineumocócicas conjugadas han desempeñado un papel importante en la prevención de las infecciones y complicaciones derivadas de este microorganismo [1].

La introducción de las vacunas conjugadas contra *Streptococcus pneumoniae* ha disminuido la incidencia mundial de la NAC y la ENI [2-5]. Específicamente, la enfermedad causada por los serotipos relacionados con la vacuna ha disminuido significativamente tras la introducción de la vacuna neumocócica conjugada (PCV). La inmunización con PCV, introducida al principio en los niños, no solo ha reducido la enfermedad neumocócica entre la población pediátrica, sino también en la población adulta. Hay pruebas de que en países de altos ingresos la inmunidad pediátrica puede proporcionar inmunidad de rebaño a la población adulta. Además de la inmunidad de rebaño, la PCV13 y la vacuna neumocócica polisacárida 23 valente (PPSV23) desempeñan un papel importante en la protección e inmunidad de los pacientes adultos de edad avanzada [3]. Desafortunadamente, no podemos asumir el mismo comportamiento de inmunidad para Guatemala, ya que las tasas de vacunación no ideales, la deficiencia en la salud general de la población y la mayor transmisión de la enfermedad, lo hacen poco probable.

El Ministerio de Salud de Guatemala introdujo la PCV13 para niños menores de 1 año, en un esquema 2+1 sin puesta al día, en diciembre de 2012. Posteriormente, se introdujo la PCV 13 y la PPSV 23 para los adultos de 65 años o más, en el programa de la seguridad social. Para ambos grupos, se desconoce en gran medida la incidencia prevacunada de las enfermedades neumocócicas y los serotipos asociados. Afortunadamente, las tasas de vacunación de la PCV13 han sido exitosas: 81% en 2016, 84% en 2017 y 85% en 2018 [6]. A pesar de ello, no se han publicado datos de los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* desde la introducción de la PCV13 y la PPSV23; por lo tanto, no podemos evaluar con precisión la eficacia del programa de vacunación en nuestra población.

Los datos de la incidencia y la prevalencia de los serotipos son limitados en los países de ingresos medios-bajos, debido a la falta de infraestructura y a las limitadas capacidades de diagnóstico. También es importante señalar que en países de ingresos bajos o medios la vacuna podría no presentar la misma efectividad que en países de ingresos altos. Guatemala, como país de ingresos medios y con acceso limitado al diagnóstico molecular para la vigilancia, carece de este tipo de registros epidemiológicos [7,8].

La vigilancia adecuada de la epidemiología, las enfermedades y la distribución de los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* es esencial para la toma de decisiones clínicas. En entornos

con recursos limitados esto debería ser aún más importante, ya que una buena vigilancia epidemiológica puede permitir la optimización de los recursos.

Presentamos los resultados de un estudio de vigilancia de 3 años, con el objetivo general de comprender la epidemiología y la distribución de serotipos de *Streptococcus pneumoniae*, tras la introducción de la PCV13 y PPSV23. El estudio siguió a niños y adultos de los dos principales hospitales del sistema público de Ciudad de Guatemala.

Materiales y métodos

Lugar

Este es un estudio observacional prospectivo, que se realizó en la ciudad de Guatemala. Guatemala es un país de ingreso medio-alto de Centroamérica con una población de 16,3 millones de habitantes y un PIB per cápita de 4.549 dólares en 2018 según el Banco Mundial.

Los 2 hospitales donde se realizó el estudio, el Hospital Roosevelt y el Hospital General San Juan de Dios, se encuentran en la Ciudad de Guatemala, la capital del país. El Hospital Roosevelt es un hospital general de 1200 camas con 250 camas pediátricas, el Hospital General San Juan de Dios es un hospital general de 1300 camas con 200 camas pediátricas. Ambos hospitales son de referencia para todo el país, y juntos reciben la mayoría de las referencias del resto de los departamentos, la mayor parte de los cuales son rurales y con menos acceso a la atención de tercer nivel.

Servicios de Salud

Los datos hospitalarios se obtuvieron en los dos hospitales; Hospital Roosevelt y Hospital General San Juan de Dios, desde el 1 de marzo de 2016 hasta el 31 de marzo de 2019. Los pacientes fueron reclutados consecutivamente a medida que ingresaban a cualquiera de los dos hospitales.

Población de estudio

Los individuos del estudio fueron todos ciudadanos guatemaltecos, tanto hombres como mujeres de todos los grupos de edad, y de diferentes áreas de origen (departamentos).

Los pacientes fueron considerados para el estudio si tenían un diagnóstico consistente con ENI o NAC. Los pacientes que ingresaron con diagnóstico presuntivo de ENI, fueron evaluados según los criterios clínicos y de laboratorio antes de ser incluidos. Los pacientes con NAC se incluyeron si cumplían los criterios de NAC-CR, por acuerdo entre dos de tres evaluadores independientes. Tras el diagnóstico de ENI o de NAC-CR, los sujetos fueron entrevistados para comprobar

su estado de vacunación, luego de ser informados y haber firmado un formulario de consentimiento. Las muestras biológicas de los pacientes, si estaban disponibles, se analizaron para determinar la presencia de *Streptococcus pneumoniae*. Las muestras positivas se sometieron a un análisis posterior para detectar el serotipo de *Streptococcus pneumoniae*.

Durante el tamizaje se evaluaron los datos demográficos del paciente, el resultado clínico, los factores de riesgo conocidos para las enfermedades neumocócicas y los antecedentes de vacunación. Para los antecedentes de vacunación, solo se utilizó el carné de vacunación nacional como documento fuente.

Definiciones de Caso

Los diagnósticos de interés para este estudio fueron la ENI y la NAC. Se realizó un tamizaje de todos los pacientes que presentaban síntomas compatibles con una ENI o una NAC al ingreso. Si los pacientes cumplían los criterios clínicos y de laboratorio de la ENI, se incluyeron en el estudio como sospechosos de ENI. En cuanto a los pacientes con NAC, si cumplían los criterios clínicos, la radiografía de tórax del paciente era revisada por tres evaluadores estandarizados independientes. Si dos o más evaluadores informaban de una consolidación o derrame pleural según los criterios estandarizados de [9,10] los pacientes se enrolaban como NAC-CR.

Procedimientos de Laboratorio

Como parte de la atención estándar de cada hospital, a cada paciente se le realizaron análisis de sangre, análisis de fluidos corporales estériles y cultivos. La identificación y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para *Streptococcus pneumoniae* se realizaron con Vitek 2 (bioMérieux, Marcy l'Étoile, Francia)

Si estaba disponible, se envió una alícuota del fluido corporal a un laboratorio central para la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR). La extracción de ADN se realizó con el mini kit de ADN de Qiagen. La extracción se realizó a partir de los aislamientos por ebullición. Se realizó la RT-PCR para identificar 3 bacterias: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* [11,12] Todas las muestras que tuvieron un resultado positivo para *Streptococcus pneumoniae* fueron procesadas por RT-PCR para su serotipificación, utilizando la prueba descrita, para 21 serotipos comunes prevalentes en América Latina [13]

Se recogió una muestra de orina de los pacientes ≥ 15 años de edad y se analizó mediante BinaxNOW® para la detección del antígeno polisacárido C de *Streptococcus pneumoniae*.

Análisis estadístico

El resultado de interés fue la determinación del serotipo de *Streptococcus pneumoniae*, tanto en ENI como en NAC-CR, entre la población pediátrica y adulta de los dos principales hospitales de Guatemala. Los pacientes fueron reclutados consecutivamente a medida que ingresaban con el presunto diagnóstico (ya sea ENI o NAC-CR) por muestreo de conveniencia entre 2016-2019.

Los datos se recogieron mediante un formulario electrónico estandarizado. El análisis fue puramente descriptivo utilizando tablas y figuras para la presentación. No se realizaron más análisis estadísticos para este manuscrito, pero está previsto publicar otros análisis, incluyendo la efectividad de la vacuna.

Resultados y discusión

Desde el 1 de marzo de 2016 hasta el 31 de marzo de 2019 se examinaron un total de 3764 pacientes: 348 para ENI y 3384 para NAC. Se incluyeron un total de 1119 pacientes: 249 (22,25%) con sospecha de ENI y 870 (77,75%) con NAC-CR. La figura 1, al final del texto, ilustra el algoritmo de inclusión. Las características demográficas se presentan en la tabla 1. El 49% de los pacientes eran de la ciudad de Guatemala, mientras que el 51% eran de otros departamentos del país.

La edad media de presentación fue de 18 años, con un rango de 1 mes a 95 años. Hubo un predominio del sexo masculino y de la etnia ladina.

De los 249 casos de ENI, la meningitis y la sepsis constituían el 73% de los casos. La meningitis tuvo la mayor incidencia (52%), seguida de la sepsis. El resto de los casos fueron peritonitis (15%), bacteriemia (5%), artritis séptica y el 3% de los casos se clasificaron como otro diagnóstico. Las figuras 2 y 3, al final del texto, muestran los casos desospecha de ENI y NAC-RC por grupos de edad.

Se observaron varias comorbilidades tanto en el grupo de ENI (14%) como en el de NAC-RC (12%). En cuanto a los casos de sospecha de ENI, las comorbilidades más comunes fueron el VIH (5%), seguido de la IRA (2%) y la anemia y la hipertensión arterial (1% cada una). El 6% de los casos presentaban otras comorbilidades. En el grupo NAC-CR, la comorbilidad más común fue también el VIH, que estaba presente en el 2% de los pacientes. También se observó anemia (2%) y desnutrición (2%) como comorbilidades comunes. La hipertensión arterial y la diabetes estaban presentes en el 1% de los casos. El hipotiroidismo y la Enfermedad Renal Crónica estaban presentes en el 0,4% de la muestra. El 2% de los casos presentaban otras comorbilidades.

En 244/249 (98%) de casos de sospecha de ENI y en 486/870 (56%) de NAC-RC, se tomó al menos una muestra biológica (hemocultivo y/o líquido corporal). *Streptococcus pneumoniae* se confirmó mediante cultivo o PCR en el 20% (48/244) y el 7% (36/486) de los casos de ENI y NAC-RC, respectivamente (véase la tabla 2). Teniendo en cuenta todos los casos (si no se disponía de muestra, se asumía un resultado negativo), la tasa de *Streptococcus pneumoniae* confirmada fue del 19% (48/249) para la sospecha general de ENI y del 4% (36/870) para la NAC-RC.

Tabla 1. Datos demográficos de los sujetos.

	Todos (n=1119)	ENI (n=249)	NAC-CR (n=870)
Edad	promedio 18 años (1 mes - 95 años)	promedio 22 años (1 mes - 87 años)	promedio 16 años (1 mes-95 años)
Sexo	1.3:1 (masculino=635, femenino=484)	1.4:1 (masculino=147, femenino=102)	1.3:1 (masculino=488, femenino=382)
Etnia	ladino 78%, Maya 21%, otro 1%	ladino 74%, Maya 24%, otro 2%	ladino 79%, Maya 20%, otro 1%
Origen	Área metropolitana 49%, otras áreas 51%	Área metropolitana 43%, otras áreas 57%	Área metropolitana 50%, otras áreas 50%

Tabla 2. Casos confirmados de *Streptococcus pneumoniae* por laboratorio.

Síndrome	Hemocultivo n/N (%)	Cultivo de líquido corporal n/N (%)	RT-PCR n/N‡ (%)	Cultivo RT-PCR positivo [^] n/N* (%)
Meningitis	3/72 (4)	11/128 (9)	21/80 (26)	23/128 (18)
Sepsis	0/49 (0)	0/32 (0)	6/17 (35)	6/51 (12)
Bacteremia	8/12 (67)	0/4 (0)	0/1 (0)	8/12 (67)**
Peritonitis	0/17 (0)	2/36 (5)	9/27 (33)	9/37 (24)
Artritis	0/9 (0)	0/8 (0)	1/1 (100)	1/9 (11)
Otro	0/5 (0)	1/7 (14)	0/2 (0)	1/7 (14)
Todo ENI	11/164 (7)	14/215 (6)	37/128 (29)	48/244 (20)
NAC-RC	6/415 (1)	8/195 (4)	32/85 (38)	36/486 (7)
Todos (ENI y NAC-RC)	17/579 (3)	22/410 (5)	69/213 (32)	84/730 (11)

* N número de casos con al menos una muestra

[^] El total de muestras positivas es dada por individuo. Un participante puede tener resultado de hemocultivo y líquido corporal, contando solo como un caso por síndrome.

** Los otros 4 casos de bacteriemia fueron positivos para otros patógenos diferentes a *Streptococcus pneumoniae*

‡ Número de líquidos corporales recibidos en UVG. En algunos casos no hubo suficiente líquido corporal para realizar RT-PCR.

Binax now®, para muestras de orina, fue realizado en 135/ 870 (15.5%) pacientes con NAC-RC mayores de 15 años de edad. El porcentaje de positividad fue del 9.6% (13/135).

Tabla 3. Estado de vacunación en niños menores de 5 años (elegibles para la vacunación de rutina en el programa nacional) según el diagnóstico.

Diagnóstico (n)	0 dosis n(%)	Una dosis n(%)	Dos dosis n(%)	Tres dosis n(%)	Cuatro dosis n(%)
Artritis (n=4)	0% (0)	0% (0)	50% (2)	50% (2)	0% (0)
Bacteremia (n=9)	14% (1)	57% (4)	14% (1)	14% (1)	0% (0)
Meningitis (n=53)	46% (13)	21% (6)	21% (6)	11% (3)	0% (0)
Sepsis (n=40)	35% (9)	27% (7)	27% (7)	12% (3)	0% (0)
Otro (n=3)	50% (1)	0% (0)	50% (1)	0% (0)	0% (0)
Todo ENI (n=109)	35% (24)	25% (17)	25% (17)	13% (9)	0% (0)
NAC-RC (n=547)	25% (91)	25% (91)	30% (108)	19% (67)	0% (0)

Se dispuso de un total de 81 muestras para la serotipificación. En general, los serotipos más comunes relacionados con la vacuna (es decir, cubiertos por la vacunación) fueron el 3 (n=20) y el 19A (n=8). El serotipo más común no relacionado con la vacuna fue el 2 (n=9) (Fig. 4). 25 muestras positivas para *Streptococcus pneumoniae* (30%) no tenían un serotipo capsular identificable por nuestro ensayo de PCR.

El estado de vacunación se evaluó en los niños menores de 5 años (edad elegible según el calendario nacional de vacunación) y se muestra según el diagnóstico en la tabla 3.

En las tablas 4 y 5 se muestra la distribución de los serotipos en los pacientes con ENI o NAC-CR, según la edad y el estado de vacunación.

Tabla 4. Distribución de serotipos en pacientes con ENI o NAC-RC confirmados según la edad.

	< 1	1 a 5	5 a 15	15 a 25	25 a 50	50 a 60	+ 60
1			1				
2	5		1	1	1		1
3	2	9	1	1	1		6
4			2				
5			4				
6A/B/C/D		1			2		
7F/7A			1		1		1
9V/9A		2	1				
11A/11D	1				1		
14		2			1		1
15A/15F	1	1	1				
16F							1
19A	2	1	3		2		
23A							2
23F							1
No serotificado	5	5	3	1	6	1	4
Total	16	21	18	3	15	1	17

* Puede haber más serotipos que pacientes positivos, ya que en algunos casos se identificó más de un serotipo.

Tabla 5. Distribución de serotipos para ENI confirmada y NAC-CR neumocócica confirmada para sujetos de todas las edades, según el estado de vacunación, todas las edades.

Serotipo	Total casos*	Sin datos de vacunación	0 dosis	1 dosis**	2 dosis	3 dosis
1	1	0	1	0	0	0
2	9	0	7	1	1	0
3	20	13	2	1	2	2
4	2	2	0	0	0	0
5	4	3	1	0	0	0
6A/B/C/D	3	3	0	0	0	0
7F/7A	3	3	0	0	0	0
9V/9A	3	2	0	0	1	0
11A/11D	2	2	0	0	0	0
14	4	4	0	0	0	0
15A/15F	3	2	0	0	1	0
16F	1	1	0	0	0	0
19A	8	2	5	1	0	0
23A	2	2	0	0	0	0
23F	1	1	0	0	0	0
Otro serotipo***	25	10	9	3	1	2

* Puede haber más serotipos que casos de pacientes positivos, algunos casos tenían más de un serotipo identificado.

** Vacunación evaluada con al menos 1 dosis, al menos 2 dosis, al menos 3 dosis.

*** Serotipo diferente a los 21 identificables por el ensayo utilizado.

Los serotipos de *Streptococcus pneumoniae* encontrados según el estado de vacunación en niños menores de 5 años y mayores de 5 años, se muestran en las tablas 6 y 7, respectivamente. Se encontraron serotipos relacionados con la vacuna en 7/37 pacientes menores de 5 años con al menos una dosis de vacuna. De los 7 casos, 5 eran del

serotipo 3 (sujetos con 1, 2 o 3 dosis de vacuna), 1 del serotipo 9V/9A (en un sujeto con 2 dosis de vacuna) y 1 del serotipo 19A (en un sujeto con solo 1 dosis de vacuna). En el grupo de más de 5 años, solo había 1 paciente positivo con al menos 1 dosis de vacuna.

Tabla 6. Distribución de los serotipos de ENI y NAC-RX confirmadas en los sujetos menores de 5 años, según el estado de vacunación.

Serotipo	Total casos*	Sin datos de vacunación	0 dosis	1 dosis**	2 dosis	3 dosis
2	5	0	3	1	1	0
3	11	5	1	1	2	2
6A/B/C/D	1	1	0	0	0	0
9V/9A	2	1	0	0	1	0
11A/11D	1	1	0	0	0	0
14	2	2	0	0	0	0
15A/15F	2	1	0	0	1	0
19A	3	1	1	1	0	0
Otro serotipo***	10	4	1	2	1	2

* Puede haber más serotipos que casos de pacientes positivos, algunos casos tenían más de un serotipo identificado.

** Vacunación evaluada con al menos 1 dosis, al menos 2 dosis, al menos 3 dosis.

*** Serotipo diferente a los 21 identificables por el ensayo utilizado.

**** ningún sujeto positivo a *Streptococcus pneumoniae* tenía más de 3 dosis de vacuna reportadas.

Tabla 7. Distribución de los serotipos de ENI y NAC-CR confirmadas en sujetos mayores de 5 años según el estado de vacunación.

Serotipo	Total casos*	Sin datos de vacunación	0 dosis	1 dosis**
1	1	0	1	0
2	4	0	4	0
3	9	8	1	0
4	2	2	0	0
5	4	3	1	0
6A/B/C/D	2	2	0	0
7F/7A	3	3	0	0
9V/9A	1	1	0	0
11A/11D	1	1	0	0
14	2	2	0	0
15A/15F	1	1	0	0
16F	1	1	0	0
19A	5	1	4	0
23A	2	2	0	0
23F	1	1	0	0
Otro serotipo***	15	6	8	1

* Puede haber más serotipos que casos de pacientes positivos, algunos casos tenían más de un serotipo identificado.

** Vacunación evaluada con al menos 1 dosis, al menos 2 dosis, al menos 3 dosis.

*** Serotipo diferente a los 21 identificables por el ensayo utilizado.

**** ningún sujeto positivo a *Streptococcus pneumoniae* tenía más de 3 dosis de vacuna reportadas.

Se analizaron un total de 81 muestras, en las que se detectaron 91 serotipos. Se encontró una infección de doble serotipo en 10 de las 81 muestras analizadas. Había 3 muestras en las que estaban presentes los serotipos 14 y 3, dos para los serotipos 11A/11D y 3, dos para los serotipos 2 y 3, y una muestra de cada uno de los siguientes serotipos: 23A y 3, 19A y, 9V/9A y 5.

Se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en 25 aislados de *Streptococcus pneumoniae*. La prevalencia global de resistencia observada fue para tetraciclina (43%), trimetoprim-sulfametoxazol (43%), penicilina-meningitis (12%), penicilina no meningitis (12,5%), cefotaxima (12,5%), eritromicina (8%) y clindamicina (5%). En los niños menores de 5 años (8/25), se observó una mayor tasa de resistencia a la penicilina no meningitis (50%) y a la cefotaxima (25%).

En general, la mortalidad intrahospitalaria fue del 21% para la sospecha de ENI (meningitis 22%, sepsis 22%, peritonitis 19%, otras 13%, artritis 0%), y del 10% para la NAC-CR.

Discusión

Este estudio muestra la importancia de *Streptococcus pneumoniae* como causa de enfermedad invasiva en niños y adultos de los hospitales de Ciudad de Guatemala. En un estudio similar, realizado en Guatemala antes de que se incorporaran las vacunas contra *Haemophilus influenzae* tipo B y *Streptococcus pneumoniae* al calendario nacional, *Streptococcus pneumoniae* representó la segunda causa de enfermedad invasiva; y *Streptococcus pneumoniae* se confirmó en el 6% de las ENI generales, en el 13% de las meningitis y en el 4% de las neumonías. [14]. En nuestro estudio, encontramos una mayor tasa de casos confirmados por neumococo, con un 19% para la ENI general, un 18% en la meningitis y un 4% en la NAC-RC. La mayoría de los casos positivos se confirmaron por RT-PCR, mientras que unos pocos se confirmaron por cultivo. En este estudio se encontraron otras etiologías bacterianas de enfermedad invasiva, las cuales no se muestran en este estudio.

Tanto en adultos como en niños, y en vacunados como en no vacunados, el serotipo 3 tuvo la mayor tasa de incidencia; 9 eran mayores de 5 años, no teniéndose registros de vacunas para 8 de estos, y 1 tenía documentado no tener ninguna dosis de PCV13; 11 casos eran en menores de 5 años, no teniendo el registro de vacunación en 5 pacientes, 1 tenía 0 dosis y 5 pacientes habían recibido 1 o más dosis de PCV13. Solo 7 niños vacunados estaban infectados con serotipos relacionados con la vacuna; 5 de estos 7 niños estaban infectados con el serotipo 3. Esto es coherente con estudios anteriores, ya que se sabe que la vacuna tiene una eficacia menor para el serotipo 3 [15]. Un estudio realizado en Massachusetts en 2020, informó de que el 78% de los

casos de ENI con serotipo 3 se produjeron en niños totalmente vacunados con PCV13. [16]. En nuestro estudio, el serotipo 2 fue el segundo más frecuente encontrado, lo que coincide con los hallazgos de Gaensbauer et al, en un entorno similar [17]. El serotipo 19A fue el tercero más frecuente. Este serotipo se ha descrito como un aislado emergente importante en entornos en los que se utilizó la vacunación con la vacuna neumocócica 7 valente, lo cual ha causado preocupación respecto a la virulencia de este serotipo. [18,19]

Balsells et al [7] proporcionó una revisión de los diferentes serotipos a nivel mundial. Destacaron la importancia de la ENI causada por serotipos incluidos en las vacunas en América Latina y la posibilidad de prevenirla mediante la vacunación. En consonancia con los informes anteriores, encontramos serotipos relacionados con la vacuna, principalmente en individuos no vacunados. De todos los serotipos encontrados, el 23% están incluidos en la PCV10, el 54% en la PCV13 y el 69% en la PPSV23. El serotipo 19A representa la mayoría de los serotipos incluidos en la PCV13 y no en la PCV10 (8 aislados). El serotipo 2 representa la mayoría de los serotipos incluidos en la PPSV23, pero no en la PCV10 ni en la PCV13 (9 cepas). En el grupo de menores de 5 años (elegibles para la vacunación según nuestro calendario nacional de vacunación) casi la mitad de los aislamientos eran serotipos incluidos en las vacunas (48%), pero solo el 15% de los pacientes positivos habían recibido al menos una dosis de vacuna. Esperamos que el aumento de la cobertura de vacunas tenga un impacto en la reducción de la incidencia de la enfermedad.

Los serotipos no incluidos en las vacunas representan más de la mitad de nuestros aislamientos. Nuestro ensayo no pudo identificar el serotipo en el 27% de los aislamientos (en el capítulo de resultados se mencionó que fueron 30% los aislamientos en los que no fue posible identificar el serotipo); nuestro ensayo fue diseñado para identificar los 21 serotipos más comúnmente encontrados en estudios previos en la región [13] incluyendo todos los serotipos de vacunas conjugadas. Se necesitan más estudios para averiguar qué serotipos no vacunales son prevalentes en nuestro entorno.

Este estudio tuvo la limitación de ser realizado en solo dos hospitales del país; sin embargo, son los dos hospitales de referencia más grandes y que reciben referencias a nivel nacional. El estudio no representa a toda la población guatemalteca, pero creemos que es una representación adecuada del paciente guatemalteco promedio diagnosticado con ENI y NAC. Se necesitan más estudios para entender mejor esta enfermedad en pacientes con menos comorbilidades, y en individuos de países de ingresos bajos y medios con calendarios de vacunación completos. Otra limitación importante de este estudio es que la RT-PCR se realizó solo si se disponía de fluidos corporales remanentes. Los estudios futuros deberían considerar el uso de otros

métodos de almacenamiento y transporte de muestras, como el papel de filtro. [20,21]

Nuestro estudio detectó una tasa más alta de lo esperado en la infección por doble serotipo. Un estudio anterior de Sudáfrica en 2017 reportó una incidencia del 0.35% de infección por doble serotipo para los casos de ENI analizados desde 2005 hasta 2014 [22]. En nuestro estudio la incidencia de infección con dos serotipos, tanto para ENI como para NAC-CR fue del 12% (10/81). La combinación de serotipos más común fue: 14 y 3, 11A/11D y 3 y 2 y 3. El serotipo 3 se encontró en 8 de los 10 casos. Curiosamente, la combinación más común, 14 y 3, son ambos serotipos relacionados con la vacuna. En todas las infecciones con dos serotipos, había al menos un serotipo relacionado con la vacuna (3, 14, 5, 19A, 9V).

En este estudio, los resultados de Binax now © antígenos urinarios no fueron de relevancia. El estudio se realizó en el 15,5% de los pacientes con NAC-CR, con una tasa de positividad de 9.6%. No obstante, la eficacia de esta herramienta podría evaluarse en futuros estudios, como una forma alternativa y no invasiva de determinar los serotipos relacionados con la vacuna. [23, 24].

Aunque el análisis de resistencia a los antibióticos no fue el objetivo principal de nuestro estudio, encontramos datos interesantes en relación con este tema. La resistencia a los antibióticos es una gran preocupación en nuestro país, ya que se han notificado tasas de resistencia crecientes [25]. Aunque solo se disponía de unas pocas muestras para las pruebas de susceptibilidad, encontramos resistencia a TMP SMX, penicilina y cefalosporinas. Esto debería tenerse en cuenta a la hora de tratar la ENI y la NAC. Deben realizarse más estudios para evaluar los factores de riesgo de resistencia con el fin de guiar la política antimicrobiana. Esto es muy importante en países con recursos limitados, como Guatemala, para hacer un mejor uso de los medicamentos disponibles.

Aunque se están desarrollando vacunas con un número cada vez mayor de serotipos, la sustitución de serotipos siempre será una preocupación.

Conclusiones

- Estos son los resultados de la incidencia de los serotipos de *Streptococcus pneumoniae*, 4 años después de la introducción de la PCV13 en el régimen de vacunación guatemalteco. El estudio describe una alta incidencia en los serotipos 2, 3 y 19 A, como causa de ENI y NAC-CR.
- Se necesitan más estudios para detectar la prevalencia de los serotipos de *Streptococcus pneumoniae*, ya que las tasas de vacunación con la PCV13 han aumentado en el país.

Agradecimientos

Queremos agradecer la contribución del personal de laboratorio del Hospital Roosevelt y del Hospital San Juan de Dios, especialmente a las Licenciadas Remei Gordillo, Rosa María Cortez y Laura Valenzuela por su invaluable apoyo durante la realización de este estudio. También, nos gustaría agradecer al personal del Centro de Estudios de la Salud de la Universidad del Valle de Guatemala, incluyendo a la Lcda. Celia Córdón y a la Sra. Mirsa Ariano. Y, gracias a la Dra. Ana Paula Flores por su valiosa contribución en este manuscrito y estudio.

Contribución de los autores

Los autores han contribuido por igual al trabajo.

Bibliografía

- Echaniz-Aviles, G., Garza-González, E., Román-Mancha, A.L., Morfín-Otero, R., Rodríguez-Noriega, E., Ayala-Gaytán, J.J., Guajardo-Lara, C.E., Soto-Nogueron, A., Carnalla-Barajas, M.N., Camacho-Ortiz, A. (2019) *Clinical and microbiological characteristics of community-acquired pneumonia associated with Streptococcus pneumoniae in adult patients in Mexico* Revista Argentina de Microbiología 51 (3): 234-240. doi: 10.1016/j.ram.2018.10.002. Epub 2019 Jan 8. PMID: 30635204.
- Martin, N.G., Sadarangani, M., Pollard, A.J., Goldacre, M.J. (2014) *Hospital Admission Rates for Meningitis and Septicaemia Caused by Haemophilus Influenzae, Neisseria Meningitidis, and Streptococcus pneumoniae in Children In: England over Five Decades: A Population-Based Observational Study* The Lancet. Infectious Diseases 14 (5): 397-405.
- Becker-Dreps, S., Amaya, E., Liu, L., Rocha, J., Briceno, R., Moreno, G., Alemán, J., Hudgens, M.G., Woods, C.W., Weber, D.J. (2015) *Impact of a Combined Pediatric and Adult Pneumococcal Immunization Program on Adult Pneumonia Incidence and Mortality in Nicaragua* Vaccine 33 (1): 222-27.
- Tan, T.Q. (2012) *Pediatric Invasive Pneumococcal Disease in the United States in the Era of Pneumococcal Conjugate Vaccines* Clinical Microbiology Reviews 25 (3): 409-19.
- Wahl, B., O'Brien, K.L., Greenbaum, A., Majumder, A., Liu, L., Chu, Y., Lukšić, I., Nair, H., McAllister, D.A., Campbell, H., Rudan, I., Black, R., Knoll, M.D. (2018) *Burden of Streptococcus pneumoniae and Haemophilus Influenzae Type b Disease in Children in the Era of Conjugate Vaccines: Global, Regional, and National Estimates for 2000-15* The Lancet Global Health 6 (7): e744-57.
- PAHO. n.d. *No Title Coverage by Vaccine* Retrieved November 23, 2019 (http://ais.paho.org/imm/IM_JRF_COVERAGE.asp).
- Balsells, E., Guillot, L., Nair, H., Kyaw, M.H. (2017) *Serotype Distribution of Streptococcus pneumoniae Causing Invasive Disease in Children in the Post-PCV Era: A Systematic Review and Meta-Analysis* PLoS ONE 12 (5): 1-20.
- Bardach, A.E., Rey-Ares, L., Cahua, M.C., Ciapponi, A., Cafferata, M.L., Cormick, G., Gentile, A. (2017) *Burden of Culture-Confirmed Pediatric Pneumococcal Pneumonia in Latin America and the Caribbean: A Systematic Review and Meta-Analysis* Value in Health Regional Issues 14: 41-52.
- Anon (2001) *Standardization of Interpretation of Chest Radiographs for the Diagnosis of Pneumonia in Children* World Health Organization Pneumonia Vaccine Trial Investigators Group DEPARTMENT OF VACCINES.

- Mahomed, N., Fancourt, N., De Campo, J.D., De Campo, M., Akano, A., Cherian, T., Cohen, O.G., Greenberg, D., Lacey, S., Kohli, N., Lederman, H.M. (2017) *Preliminary Report from the World Health Organisation Chest Radiography in Epidemiological Studies Project 1399-1404.*
- Carvalho, M.D.G.S., Tondella, M.L., McCaustland, K., Weidlich, L., McGee, L., Mayer, L.W., Steigerwalt, A., Whaley, M., Facklam, R., Fields, B., Carlone, G., Ades, E.W., Dagan, R., Sampson, J.S. (2007) *Evaluation and Improvement of Real-Time PCR Assays Targeting *lytA*, *ply*, and *psaA* Genes for Detection of Pneumococcal DNA* Journal of Clinical Microbiology 45 (8): 2460-66.
- Corless, C.E., Guiver, M., Borrow, R., Edwards-Jones, V., Fox, A.J., Kaczmarek, E.B. (2001) *Simultaneous Detection of Neisseria Meningitidis, Haemophilus Influenzae, and Streptococcus pneumoniae in Suspected Cases of Meningitis and Septicemia Using Real-Time PCR* Journal of Clinical Microbiology 39 (4): 1553-58.
- Pimenta, F.C., Roundtree, A., Soysal, A., Bakir, M., Du Plessis, M., Wolter, N., Von Gottberg, A., McGee, L., Carvalho, M.D.G., Beall, B. (2013) *Sequential Triplex Real-Time PCR Assay for Detecting 21 Pneumococcal Capsular Serotypes That Account for a High Global Disease Burden* Journal of Clinical Microbiology 51 (2): 647-52.
- Asturias, E.J., Soto, M., Menendez, R., Ramirez, P.L., Recinos, F., Gordillo, R., Holt, E., Halsey, N.A. (2003) *Meningitis and Pneumonia in Guatemalan Children: The Importance of Haemophilus Influenzae Type b and Streptococcus pneumoniae* Revista Panamericana de Salud Pública 14 (6): 377-84.
- Linley, E., Bell, A., Gritzfeld, J.F., Borrow, R. (2019) *Should Pneumococcal Serotype 3 Be Included in Serotype-Specific Immunoassays?* Vaccines 7 (1): 4.
- Lapidot, R., Shea, K.M., Yildirim, I., Cabral, H.J., Pelton, S.I., (2020) *Department Of Public Health TM. Characteristics of Serotype 3 Invasive Pneumococcal Disease before and after Universal Childhood Immunization with PCV13 in Massachusetts* Pathogens 9 (5): 396.
- Gaensbauer, J.T., Asturias, E.J., Soto, M., Holt, E., Olson, D., Halsey, N.A., Menendez, R.A., Recinos, F.A., Ramirez, P., Velasquez, T., Matheu, J.R., Gordillo, M.R., Ariano, M. (2016) *Pediatric Invasive Pneumococcal Disease in Guatemala City: Importance of Serotype 2 Pediatric Infectious Disease Journal* 35 (5): e139-43.
- Chacón-Cruz, E., Velasco-Mendez, Y., Navarro-Alvarez, S., Rivas-Landeros, R.M., Volker, M.L., Lopez-Espinoza, G. (2012) *Pneumococcal Disease: Emergence of Serotypes 19A and 7F Following Conjugate Pneumococcal Vaccination in a Mexican Hospital* Journal of Infection in Developing Countries 6 (6): 516-20.
- Isturiz, R., Sings, H.L., Hilton, B., Arguedas, A., Reinert, R.R., Jodar, L. (2017) *Streptococcus pneumoniae Serotype 19A: Worldwide Epidemiology* Expert Review of Vaccines 16 (10): 1007-27.
- Fukasawa, L.O., Gonçalves, M.G., Higa, F.T., Castilho, E.A., Ibarz-Pavón, A.B., Sacchi, C.T. (2017) *Use of Cerebrospinal Fluid and Serum Samples Impregnated on FTATM Elute Filter Paper for the Diagnosis of Infections Caused by Neisseria Meningitidis, Streptococcus pneumoniae and Haemophilus Influenzae* PLoS ONE 12 (2): 1-11.
- Tam, P.Y.I., Hernandez-Alvarado, N., Schleiss, M.R., Hassan-Hanga, F., Onuchukwu, Ch., Umore, D., Obaro, S.K. (2016) *Molecular Detection of Streptococcus pneumoniae on Dried Blood Spots from Febrile Nigerian Children Compared to Culture* PLoS ONE 11 (3): 1-12.
- Ndlangisa, K., du Plessis, M., Allam, M., Wolter, N., de Gouveia, L., Klugman, K.P., Cohen, C., Gladstone, R.A., von Gottberg, A. (2017) *Invasive Disease Caused Simultaneously by Dual Serotypes of Streptococcus pneumoniae* Journal of Clinical Microbiology 56 (1): e01149-17. doi: 10.1128/JCM.01149-17. PMID: 29118167; PMCID: PMC5744228.
- Loiez, C., Duployez, C., Wallet, F. (2017) *A Promising New Test to Detect Streptococcus pneumoniae Urinary Antigen* Medecine et Maladies Infectieuses 47 (7): 494-97.
- Wunderink, R.G., Self, W.H., Anderson, E.J., Balk, R., Fakhran, S., Courtney, D.M., Qi, Ch., Williams, D.J., Zhu, Y., Whitney, C.G., Moore, M.R., Bramley, A., Jain, S., Edwards, K.M., Grijalva, C.J. (2018) *Pneumococcal Community-Acquired Pneumonia Detected by Serotype-Specific Urinary Antigen Detection Assays* Clinical Infectious Diseases 66 (10): 1504-10.
- Dueger, EL., Asturias, E.J., Matheu, J., Gordillo, R., Torres, O., Halsey, N. (2008) *Increasing Penicillin and Trimethoprim-Sulfamethoxazole Resistance in Nasopharyngeal Streptococcus pneumoniae Isolates from Guatemalan Children, 2001--2006* International Journal of Infectious Diseases 12 (3): 289-97.

ANEXOS

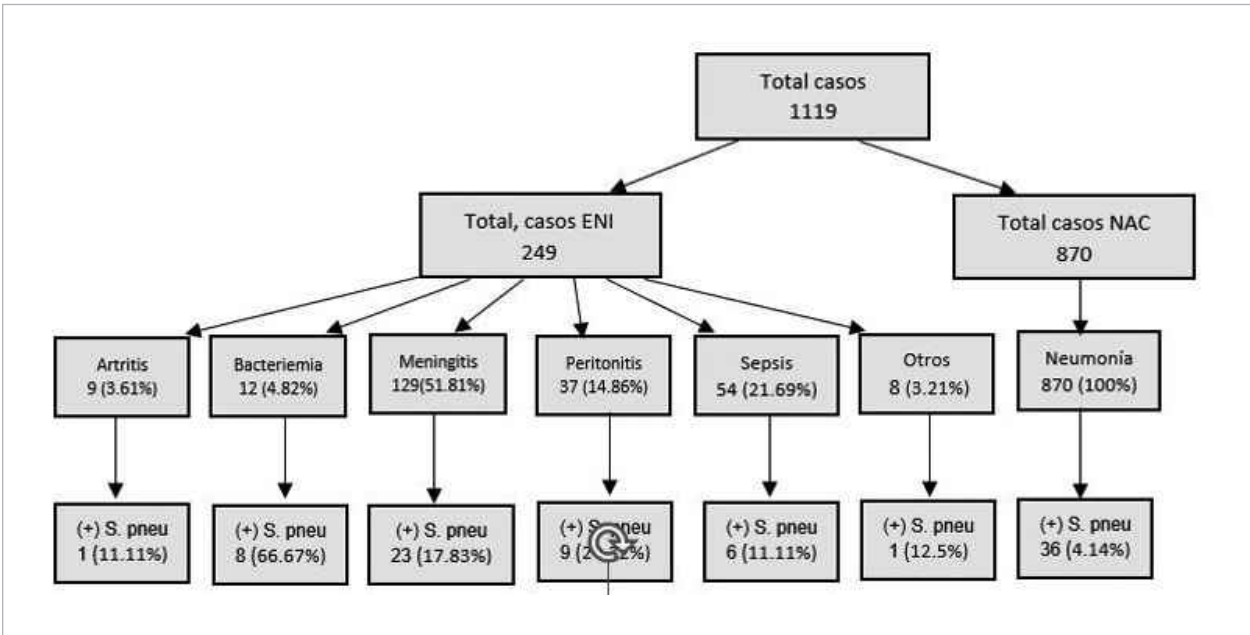


Figura 1. Algoritmo de inclusión.

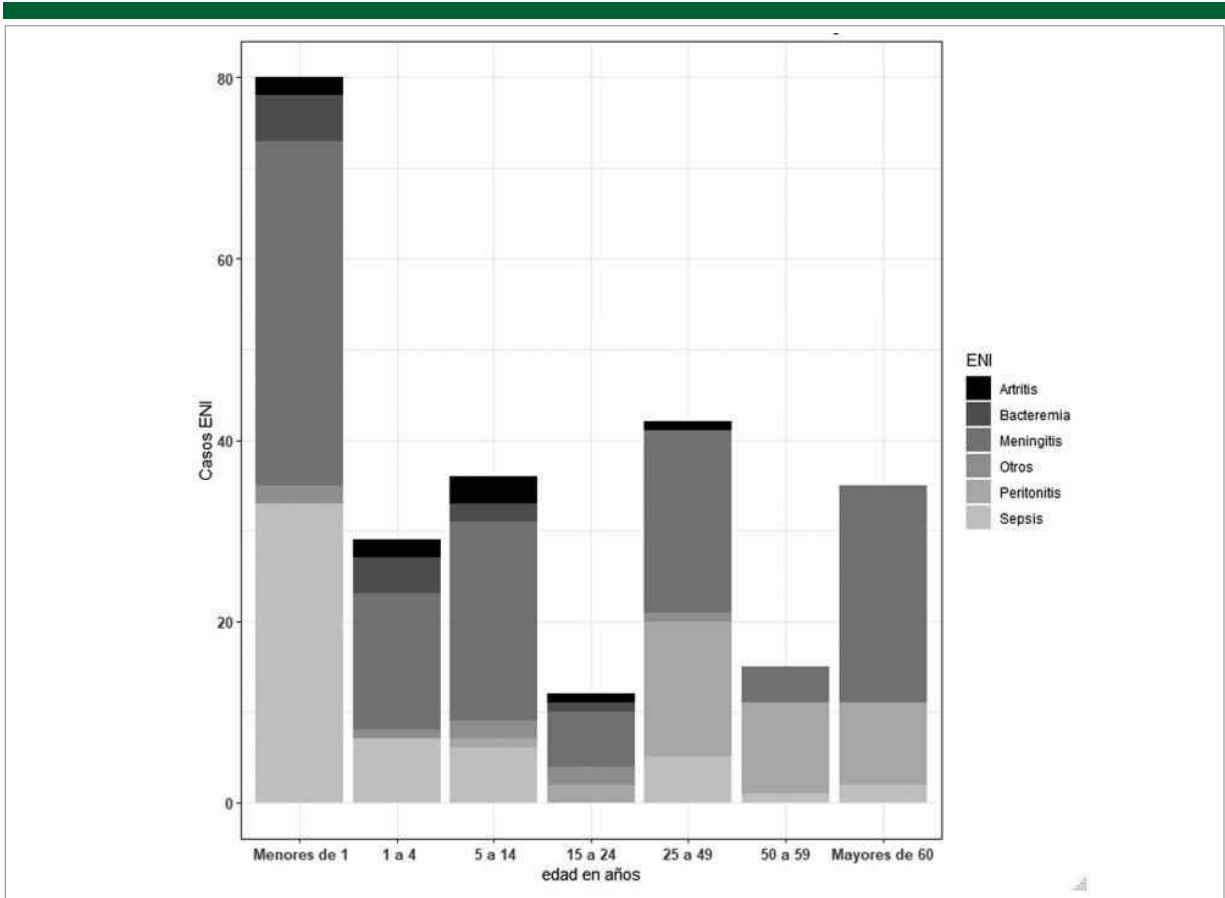


Figura 2. Casos de sospecha de ENI por grupo de edad.

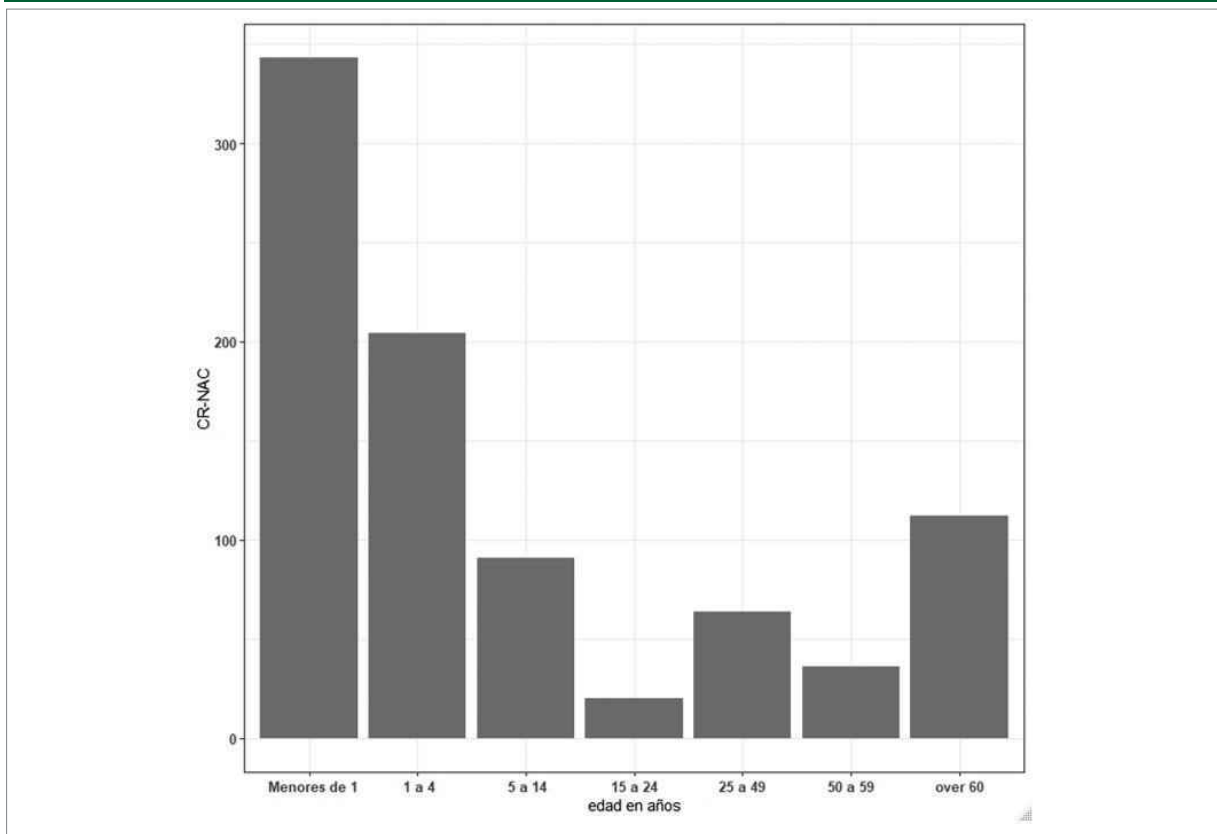


Figura 3. Casos de NAC-RC por grupo de edad.

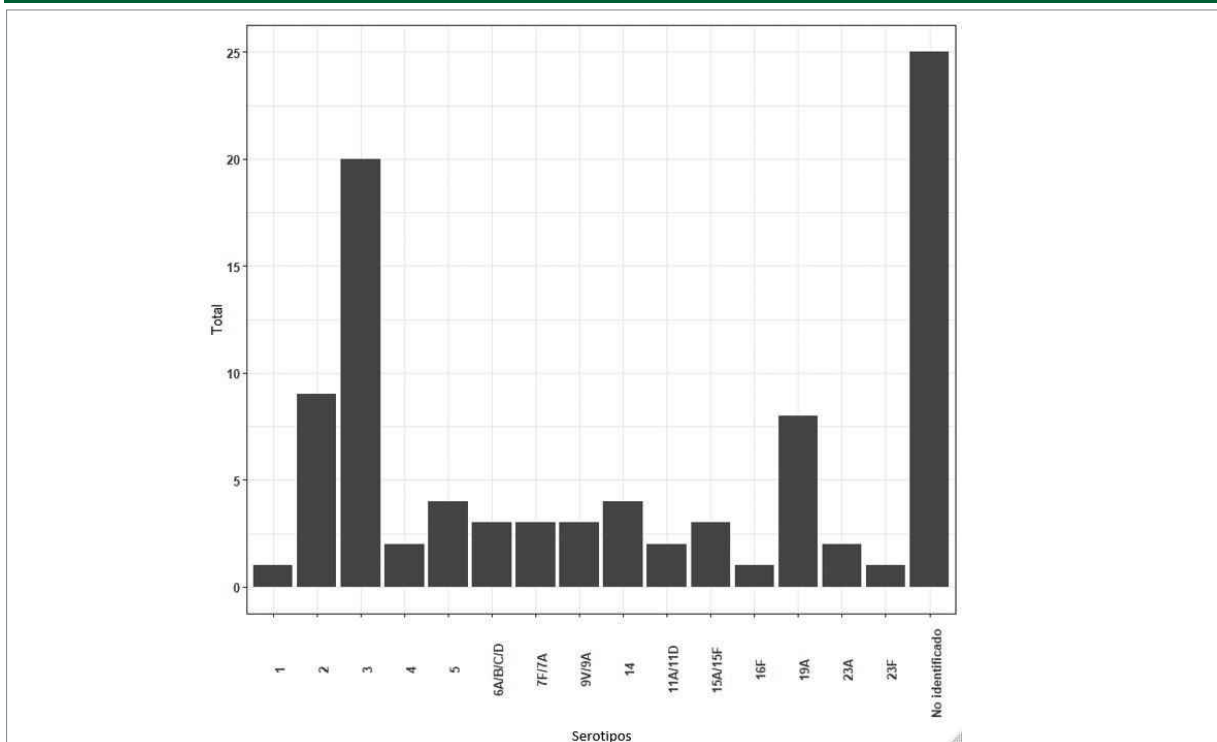


Figura 4. Distribución del serotipo de *Streptococcus pneumoniae* en todos los pacientes.