

## Original

# Serotipos y sensibilidad antibiótica de *Streptococcus pneumoniae* en niños del área de Valencia y Castellón: estudio prospectivo multicéntrico

E. Cantón, M. Montaner, C. Pérez-Bellés, J. Román, R. Moreno, R. Igual, D. González-Granda y M. Gobernado

Unidad de Bacteriología Experimental y Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Avda. Campanar 21, 46009 Valencia

### RESUMEN

Se ha realizado un estudio para conocer los serotipos, la cobertura de la vacuna conjugada heptavalente (VCN 7-v) y la sensibilidad a los antibióticos de *Streptococcus pneumoniae* aislados en niños (<15 años) del área sanitaria de las provincias de Castellón y Valencia desde junio de 1999 hasta diciembre de 2002. En total se evaluaron 271 cepas, de las cuales el 15,5% fueron invasoras, el 63,5% de origen respiratorio y el 22,5% de exudados conjuntivales y óticos. El 67,2% de las cepas pertenecían a niños menores de 2 años. La distribución de los serotipos cambia ligeramente con la edad y el origen de la muestra; los más frecuentes fueron 19, 6, 23, 14, 3, 9 y 11, pero en los niños menores de 2 años el orden cambia a 19, 6, 14 y 23, 9, 11 y 3, y en las cepas invasoras es 19, 6, 14, 3 y 23. El 27,2% de las cepas fueron sensibles a los diez antibióticos probados. Frente a la penicilina, el 50,4% tuvieron sensibilidad disminuida y el 5,8% fueron altamente resistentes; el 98,3% fueron sensibles a la ampicilina y a amoxicilina-ácido clavulánico, y el 80,7% a la cefuroxima. El 52,5% fueron resistentes a la eritromicina y el 43,7% a la clindamicina. Ninguna cepa fue resistente a la rifampicina, la vancomicina, el levofloxacino ni la cefotaxima. Los serotipos más sensibles fueron el 3 y el 11, y los más resistentes el 14 (que siempre fue resistente a un antibiótico), 19, 6 y 23. Según los datos, la cobertura teórica de la VCN 7-v sería del 80,1% en los niños menores de 2 años y del 73,43% en los de 0 a 14 años.

**Palabras clave:** *S. pneumoniae* - Serotipos - Resistencia - Vacunas

## Serotypes and antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in children in the health district of Valencia and Castellón, Spain: A multicenter, prospective trial

### SUMMARY

A study was conducted to determine the serotypes, the coverage of the heptavalent conjugate vaccine (VCN 7-v) and the antibiotic susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* in children (<15 years) in the health districts of the provinces of Castellón and Valencia, Spain, from June 1999 to December 2002. A total of 271 strains were evaluated, 15.5% of which were invasive, 63.5% were of respiratory origin and 22.5% were from conjunctival and otitic exudates; 67.2% of the strains were found in children younger than 2 years of age. The distribution of the serotypes showed slight changes according to age and the origin of the sample: the most common serotypes were 19, 6, 23, 14, 3, 9 and 11; however, in children younger than 2 years of age the order changed to 19, 6, 14 and 23, 9, 11 and 3, and in the invasive strains to 19, 6, 14, 3 and 23. A total of 27.2% of the strains were susceptible to the ten antibiotics tested. For penicillin, reduced susceptibility was found in 50.4% and high resistance in 5.8%; 98.3% were susceptible to ampicillin and amoxicillin-clavulanic acid, and 80.7% to cefuroxime; 52.5% were resistant to erythromycin and 43.7% to clindamycin. No strains were resistant to rifampicin, vancomycin, levofloxacin or cefotaxime. The most susceptible serotypes were 3 and 11, and the most resistant was 14 (which consistently showed resistance to an antibiotic), 19, 6 and 23. According to these data, the theoretical coverage of VCN 7-v would be 80.1% in children younger than 2 years and 73.43% in those aged 0-14 years.

**Key words:** *S. pneumoniae* - Serotypes - Resistance - Vaccines



## INTRODUCCIÓN

*Streptococcus pneumoniae* continúa siendo hoy día, más de un siglo después de su descubrimiento, un patógeno bacteriano capaz de producir enfermedades graves como meningitis, neumonía, bacteriemia o peritonitis, y otras menos graves como sinusitis, otitis y artritis, pero con amplia difusión entre sectores específicos (1-5). Entre nosotros, en la población infantil, es también una causa importante de meningitis, neumonía, otitis, peritonitis, bacteriemias sin foco y otras infecciones, con una incidencia media anual de 4,4 a 174,1/100.000 niños y año, variación que depende fundamentalmente de la edad de la población estudiada (6-10). Se calcula que en el mundo mueren cerca de un millón de niños al año por infecciones producidas por esta bacteria (11). En España, en el año 2001, *S. pneumoniae* fue la segunda causa de meningitis, con una prevalencia media de 3,66/100.000 niños menores de 14 años, con variaciones entre ningún caso y 22,76/100.000 según las diferentes áreas geográficas y la edad, con una heterogénea colección de genotipos y una mortalidad del 3,8% al 10,4%, e importantes secuelas en más del 20% de los casos (8, 9, 12-16). *S. pneumoniae* también es la primera causa de neumonía adquirida en la comunidad, tanto en adultos como en niños, con frecuencia cursando con bacteriemia, y generando más de nueve días de hospitalización (3, 8, 17).

Históricamente, el tratamiento de elección para las infecciones neumocócicas fue la penicilina, pero desde mediados de la década de 1980 hemos asistido, en España, a un aumento del número de cepas con sensibilidad disminuida a este antibiótico, llegando a superar en algunas áreas el 50%, a la vez que han aparecido cepas multiresistentes; hechos atribuidos, en buena parte, al uso inadecuado de los antibióticos, lo cual teóricamente invalida la utilización de la penicilina como tratamiento de primera elección para este tipo de infecciones (18-20).

La elevada tasa de mortalidad que llevan consigo estas enfermedades, junto a las graves secuelas que producen algunas de ellas, hace que el impacto sanitario, sobre todo referido a coste económico, sea muy elevado y que resulte importante la prevención de la enfermedad. Tanto desde el punto de vista del tratamiento como por la posibilidad de actuar preventivamente frente a las infecciones neumocócicas, mediante programas de vacunación, es necesario evaluar la sensibilidad de este microorganismo a diferentes antibióticos, así como determinar la prevalencia de los distintos serotipos en un área determinada para conocer la cobertura de la nueva vacuna antineumocócica conjugada heptavalente (VCN 7-v), y estudiar si se han producido cambios en los serotipos prevalentes detectados previamente, como consecuencia de la vacunación. Esto es lo que ha constituido la

base del presente trabajo, llevado a cabo en niños del área valenciana.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el periodo comprendido entre junio de 1999 y diciembre de 2002 se recogieron un total de 271 aislamientos de *S. pneumoniae* procedentes de los laboratorios de microbiología de cinco centros hospitalarios de la Comunidad Valenciana: el Hospital Universitario La Fe de Valencia, el Hospital de la Ribera de Alzira, el Hospital Francisco de Borja de Gandía, el Hospital Lluís Alcanyal de Xátiva y el Hospital General de Castellón. Estos hospitales dan cobertura sanitaria a algo más de un millón y medio de personas, que representan el 34,6% de la población total de dicha Comunidad. Los aislamientos eran de niños menores de 15 años, con infecciones adquiridas en la comunidad social, atendidos en las diferentes unidades clínicas de dichos hospitales. Estos centros, a través de sus Servicios de Microbiología, remitían las cepas aisladas, por un servicio de transporte especial urgente, al Hospital Universitario La Fe de Valencia, encargado de comprobar los resultados de las pruebas de sensibilidad y realizar la serotipificación.

### Identificación de los aislamientos

Los aislamientos, a su llegada al centro de referencia, se resembraban en medio de agar de Mueller-Hinton suplementado con un 5% de sangre de carnero (AS) y se incubaban durante 24 horas a 35-36 °C en atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub> para comprobar su pureza e identidad, lo cual se confirmaba mediante la sensibilidad a la optoquina (halo de inhibición >20 mm), hemólisis alfa y solubilidad de las sales biliarias. Posteriormente, las cepas identificadas se suspendían en un medio de leche descremada (*Skim Milk*, Difco) y se guardaban congeladas a -80 °C para su conservación y estudios adicionales. De cada paciente se registraron los datos referentes a edad, sexo y origen de la muestra. Los aislamientos realizados de un mismo paciente se consideraron como un único aislamiento tras comprobar que el serotipo era el mismo en todas las muestras.

### Serotipificación

La serotipificación se realizó mediante la reacción de la cápsula de Neufeld, basada en una reacción de precipitación entre el polisacárido capsular y el anticuerpo homólogo, que confiere propiedades refráctiles a la cápsula del pneumo-

coco, la cual, vista al microscopio, con ayuda o no de colorantes, aparece hinchada y refringente. Los sueros antineumocócicos se obtuvieron del Statens Serum Institute (Copenhague, Dinamarca); el lote consta de un *omniserum* (mezcla de todos los serotipos de neumococos), nueve sueros polivalentes (A-I), que reaccionan con 8-14 serotipos, y 46 serotipos o serogrupos (25 tipos y 21 serogrupos). La reacción con el *omniserum* constituyó una prueba adicional de identificación bacteriana. Los aislamientos correctamente identificados que no reaccionaron con el *omniserum* ni con ninguno de los nueve sueros polivalentes (A-I) se consideraron neumococos no tipificables. Antes de etiquetarlos como tales se sembraban nuevamente y se repetía todo el proceso hasta tres veces.

### Pruebas de sensibilidad

Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para *S. pneumoniae* de penicilina, ampicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima, cefotaxima, eritromicina, clindamicina, rifampicina, vancomicina y levofloxacino se obtuvieron por el método *E-test*<sup>®</sup> (AB Biodisk, Solna, Suecia), siguiendo las indicaciones del fabricante. A partir de un cultivo puro de 24 horas en AS se preparó una suspensión en tampón fosfato a pH 7,3 y se ajustó a una densidad óptica (530 nm) correspondiente al 0,5 (1 para los mucosos) de la escala de McFarland. Se utilizaron tres placas de AS de 15 cm de diámetro por cepa. Las placas se sembraron homogéneamente con 100 µl de la suspensión y se dejaron se-

car durante 15 minutos antes de aplicar las tiras del *E-test*<sup>®</sup>. La lectura se realizó tras 24 horas de incubación a 35-36 °C en una atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub>.

Los puntos de corte utilizados para considerar las cepas sensibles, intermedias o resistentes a los diversos antibióticos fueron los recomendados por el NCCLS en el documento M7-A5 (21).

## RESULTADOS

### Origen de las muestras

Se evaluó un total de 271 cepas procedentes de los cinco hospitales participantes en el estudio. De las cepas evaluadas, el 57,2% correspondían a niños y el 42,8% a niñas. El 15,5% de las cepas fueron invasoras y se aislaron en muestras normalmente estériles (sangre, LCR, líquido pleural, pericárdico y ascítico, y aspiración traqueobronquial). El 63,5% fueron de origen respiratorio y el 22,5% de exudados conjuntivales y óticos.

En la Fig. 1 se refleja el porcentaje de cepas aisladas en cada tipo de muestra en los diferentes grupos de edad. El mayor porcentaje de aislamientos, en toda clase de muestra, procedía de niños menores de 2 años (67,2%), excepto en los exudados faríngeos, donde el mayor porcentaje de muestras correspondió al grupo de 2 a 5 años. También en el grupo de los menores de 2 años se aislaron la mayoría de las cepas invasoras. En las edades comprendidas entre 11 y 15 años sólo se aislaron el 3,0% de las cepas.

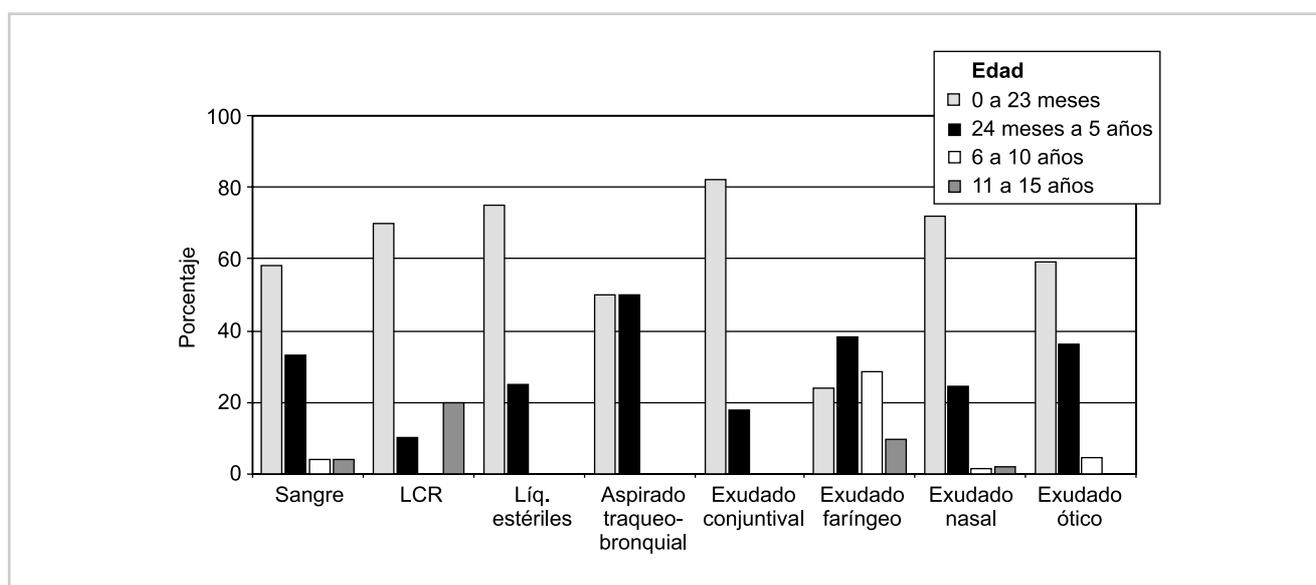


Figura 1. Porcentaje de cepas de *S. pneumoniae* distribuido por grupos de edad y muestras.

### Distribución de los serotipos

En la Tabla 1 se indica la distribución de los serotipos según las diferentes muestras evaluadas. Se identificaron en total 25 serotipos/serogrupos; siete de ellos se aislaron con una frecuencia superior al 3% y representan el 83,8% de los aislamientos. Los dos serotipos más frecuentes se aislaron en el 47,6% de las muestras. Los serotipos más frecuentes (porcentaje >3%) fueron, por orden de frecuencia, el 19 (27,3%), el 6 (20,3%), el 23 (10,0%), el 14 (9,6%), el 3 (8,1%), el 9 (4,8%) y el 11 (3,7%). Entre los que se aislaron con una frecuencia inferior al 3% debemos destacar los serotipos 1 y 7, que se aislaron en una ocasión y en líquidos estériles. Los demás serotipos pertenecían a muestras de exudados. En la Tabla 2 se detalla el porcentaje de serotipos en los diferentes grupos de edad, y en la Fig. 2 el porcentaje de los más frecuentes. En los menores de 2 años de edad, los serotipos más frecuentes fueron 19, 6, 14 y 23, 9, 11 y 3; en los mayores de 2 años los más frecuentes fueron 19, 6, 3, 23 y 14. Nótese que en este último grupo el tercer lugar por frecuencia de aislamiento lo ocupó el serotipo

3, mientras que en los menores de 2 años fue el serotipo 14. En las cepas invasoras los serotipos que se aislaron fueron, por orden de frecuencia, el 19 (35,7%), el 6 (21,43%), el 14 (14,3%), el 3 (7,1%) y el 23 (4,8%), y los serotipos 1, 5, 7, 9 y 11 con una frecuencia del 2,4%. Por grupos de edad, el mayor porcentaje de cepas no tipificables se encontró en los niños de 11 a 15 años y en muestras de exudados.

### Sensibilidad a los antibióticos

La Tabla 3 presenta la sensibilidad de las cepas aisladas a los diez antibióticos probados, el intervalo de CMI, la CMI que inhibe al 50% y al 90% de las cepas, y el porcentaje de cepas sensibles, intermedias y resistentes a cada antibiótico. De las cepas estudiadas, el 43,8% fueron sensibles a la penicilina (CMI  $\leq$  0,064 mg/l) y el 55,8% no fueron sensibles (CMI  $\geq$  0,12 mg/l), y de ellas el 5,8% tuvieron resistencia elevada (CMI  $\geq$  2 mg/l). El 98,3% fueron sensibles a la ampicilina y a amoxicilina-ácido clavulánico; sólo el 0,8% de las cepas tuvieron una CMI  $\geq$  2 mg/l. El 80,7%

**Tabla 1. Distribución de los serogrupos/serotipos de *S. pneumoniae* por tipo de muestra (número de cepas en las muestras indicadas).**

Serotipo	Sangre	LCR	Líquido estéril	Aspirado traqueobronquial	Exudado conjuntival	Exudado faríngeo	Exudado nasal	Exudado ótico	Total
1			1						1
3	2			1	1	11	6	1	22
5		1			1		1		3
6	6	2		1	6	3	30	7	55
7		1							1
9	1					2	9	1	13
10							2		2
11	1				3		6		10
12							1		1
13							1		1
14	5	1			6	1	13		26
15						1	3	3	4
16					2		3		5
17							1		1
18					1		3		4
19	7	5	2	1	13	2	32	12	74
20							1		1
21							2		2
22							1		1
23	2				2		22	1	27
24					1		2		3
29*							2		2
33				1			2		3
34							1		1
35							1		1
NT			1		3	1	2		7
Total	24	10	4	4	39	21	147	22	271

\*Los serotipos 29, 35 y 42 suelen tener reacción cruzada, y cuando esto ocurrió se consideraron serotipo 29.

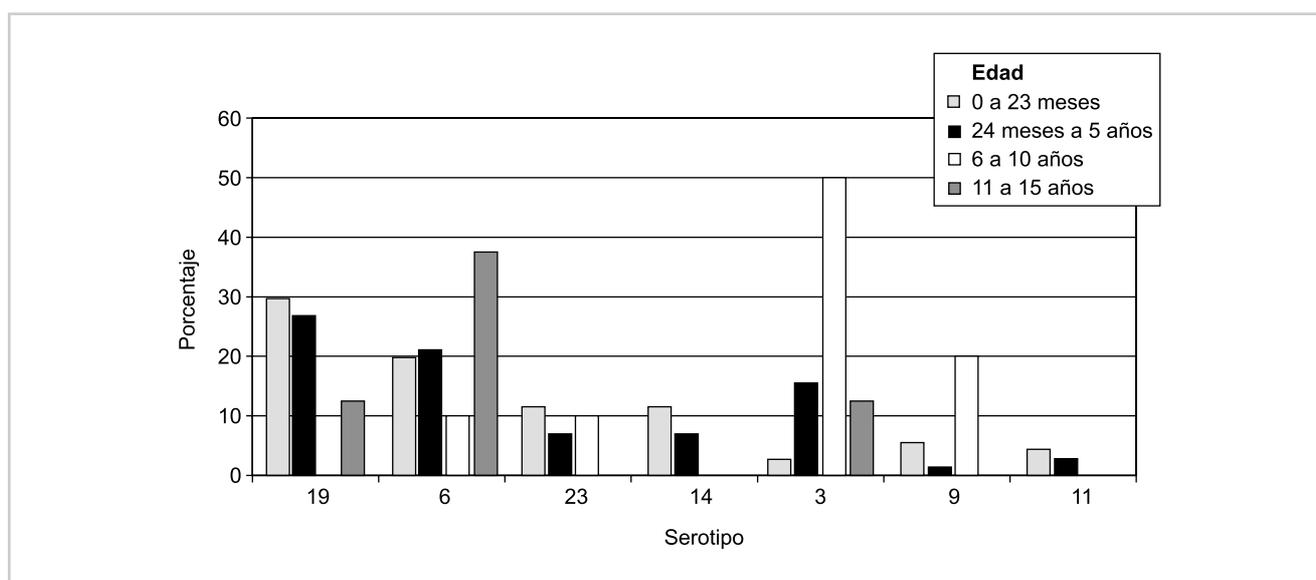
**Tabla 2. Porcentaje de serotipos/serogrupos de *S. pneumoniae* por grupos de edad.**

Serotipo	0 a 23 meses	24 meses a 5 años	6 a 10 años	11 a 15 años
1	0,5			
3	2,7	15,5	50,0	12,5
5	1,1			12,5
6	19,8	21,1	10,0	37,5
7	0,5			
9	5,5	1,4	20,0	
10	1,1			
11	4,4	2,8		
12		1,4		
13	0,5			
14	11,5	7,0		
15	1,1	2,8		
16	2,2	1,4		
17		1,4		
18	1,6	1,4		
19	29,7	26,8		12,5
20		1,4		
21	1,1			
22			10,0	
23	11,5	7,0	10,0	
24	1,1	1,4		
29	0,5			12,5
33	1,1	1,4		
34	0,5			
35	0,5			
NT	1,1	5,6		12,5
Total (n)	182	71	10	8

fueron sensibles a la cefuroxima y el 29,4% no sensibles (CMI  $\geq 2$  mg/l). No se encontraron cepas resistentes a la cefotaxima, aunque el 7,4% tuvieron una CMI = 1 mg/l. La eritromicina y la clindamicina fueron los antibióticos con mayor porcentaje de cepas resistentes (52,5% y 43,7%, respectivamente). Todas las cepas fueron sensibles a la rifampicina, la vancomicina y el levofloxacin.

En la Tabla 4 se muestran los fenotipos de resistencia y los serotipos/serogrupos en que se identificaron. De las 232 cepas probadas con los diez antibióticos, el 27,2% (63 cepas) fueron sensibles a todos ellos. Los fenotipos de resistencia más comunes fueron a la penicilina y la eritromicina (21,6%), seguidos del resistente a la eritromicina (15,9%) y del resistente a la penicilina (12,9%), y después los resistentes a la penicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y la eritromicina (11,6%). Los serotipos más sensibles a los antibióticos fueron el 3 (85% de las cepas sensibles) y el 11 (80% de las cepas sensibles). Del serotipo 3 sólo una cepa fue resistente a la penicilina y otra a la penicilina y la cefuroxima. El serotipo 11 tuvo una cepa resistente a la penicilina y la eritromicina, y otra a la penicilina y la cefuroxima. Los serotipos más resistentes fueron el 14 (siempre fue resistente al menos a un antibiótico), el 19 (85,7% resistente a uno o más antibióticos), el 6 (82% resistentes) y el 23 (77,28% resistentes)

De las cepas invasoras, el 17,6% fueron sensibles a todos los antibióticos (Tabla 5). La resistencia total a la penicilina en estas cepas fue del 55,9% (44,1% resistentes a la

**Figura 2.** Serotipos de *S. pneumoniae* que se aíslan con una frecuencia  $\geq 3\%$  en los diferentes grupos de edad.

**Tabla 3. Sensibilidad de *S. pneumoniae* a los diez antibióticos probados.**

Antibiótico (nº cepas)	Intervalo CMI (mg/l)	CMI <sub>50</sub> (mg/l)	CMI <sub>90</sub> (mg/l)	Sensible* (%)	Intermedio (%)	Resistente (%)
Penicilina (242)	0,002-32	0,125	1	43,8	50,4	5,8
Ampicilina (241)	0,016-256	0,125	1	98,3	0,8	0,8
Amoxicilina-ac. clav. (243)	0,016-3	0,064	1	99,2	0,8	0,0
Cefuroxima (243)	0,016-4	0,19	2	80,7	16,9	2,5
Cefotaxima (243)	0,002-1	0,094	0,5	92,6	7,4	0,0
Eritromicina (240)	0,016-256	1,5	256	45,0	2,5	52,5
Clindamicina (130)	0,016-256	0,25	256	51,5	0,8	47,7
Rifampicina (243)	0,003-0,25	0,023	0,064	100	0	0
Vancomicina (242)	0,016-1	0,25	0,5	100	-	-
Levofloxacin (236)	0,008-2	0,38	0,75	100	0	0

\*Penicilina: S  $\leq$  0,064 mg/l, I 0,12-1 mg/l, R  $\geq$  2 mg/l; ampicilina: S  $\leq$  2 mg/l, I 4 mg/l, R  $\geq$  8 mg/l; amoxicilina-ácido clavulánico: S  $\leq$  2 mg/l, I 4 mg/l, R  $\geq$  8 mg/l; cefotaxima: S  $\leq$  0,5 mg/l, I 1 mg/l, R  $\geq$  2 mg/l; cefuroxima: S  $\leq$  1 mg/l, I 2 mg/l, R  $\geq$  4 mg/l; eritromicina: S  $\leq$  0,25 mg/l, I 0,5 mg/l, R  $\geq$  1 mg/l; clindamicina: S  $\leq$  0,25 mg/l, I 0,5 mg/l, R  $\geq$  1 mg/l; rifampicina: S  $\leq$  1 mg/l, I 2 mg/l, R  $\geq$  4 mg/l; vancomicina: S  $\leq$  1 mg/l; levofloxacin: S  $\leq$  2 mg/l; I 4 mg/l; R  $\geq$  8 mg/l.

**Tabla 4. Fenotipos de resistencia de *S. pneumoniae* según los serotipos.**

Fenotipos, patrón resistencia	Nº cepas (%)	Serotipo (nº de cepas)
Sensible a todos los antibióticos	63 (27,2)	3 (17), 6 (9), 7 (1), 9 (2), 11 (8), 15 (1), 16 (2), 17 (1), 18 (3), 19 (8), 21 (1), 22 (1), 23 (5), 24 (1), 34 (1), 35 (1), NT (1)
PV <sup>NS</sup>	30 (12,9)	3 (1), 6 (1), 9 (5), 14 (6), 15 (1), 19 (11), 23 (2), 29 (2), NT (1)
EM <sup>NS</sup>	37 (15,9)	6 (16), 10 (1), 16 (2), 19 (14), 23 (2), 33 (1), NT (1)
PV <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	50 (21,6)	5 (2), 6 (11), 9 (3), 11 (1), 14 (2), 19 (21), 23 (6), 24 (2), 33 (1), NT (1)
PV <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup>	8 (3,4)	9 (1), 11 (1), 14 (5), 23 (1)
PV <sup>NS</sup> CT <sup>NS</sup>	1 (0,4)	19 (1)
PV <sup>NS</sup> CT <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	4 (1,7)	6 (2), 19 (1), 23 (1)
PV <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	27 (11,6)	3 (1), 6 (7), 12 (1), 13 (1), 14 (4), 15 (1), 19 (7), 23 (5)
PV <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup> CT <sup>NS</sup>	1 (0,4)	14 (1)
PV <sup>NS</sup> AM <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	1 (0,4)	6 (1)
PV <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup> CT <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	7 (3,0)	3 (1), 6 (3), 14 (2), 19 (1)
PV <sup>NS</sup> AM <sup>NS</sup> XL <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup>	1 (0,4)	9 (1)
PV <sup>NS</sup> AM <sup>NS</sup> CT <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	1 (0,4)	14 (1)
PV <sup>NS</sup> XL <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup> CT <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	1 (0,4)	14 (1)

PV: penicilina; EM: eritromicina; CT: cefotaxima; XM: cefuroxima; XL: amoxicilina-ácido clavulánico; NS: no sensibles.

**Tabla 5. Fenotipos de resistencia de las cepas de *S. pneumoniae* consideradas invasoras.**

Fenotipo	Nº cepas (%)	Serotipo (n)
Sensibles a todos los antibióticos	6 (17,6)	3 (3), 7 (1), 9 (1), 11 (1)
PV <sup>NS</sup>	4 (11,8)	14 (1), 19 (2), 23 (1)
EM <sup>NS</sup>	9 (26,5)	6 (3), 19 (6)
PV <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	9 (26,5)	5 (1), 6 (2), 19 (5), 33 (1)
PV <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup>	2 (5,8)	14 (2)
PV <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	3 (8,8)	6 (1), 14 (1), 23 (1)
PV <sup>NS</sup> XL <sup>NS</sup> XM <sup>NS</sup> EM <sup>NS</sup>	1 (2,9)	14 (1)

PV: penicilina; EM: eritromicina; XM: cefuroxima; XL: amoxicilina-ácido clavulánico; NS: no sensibles.

penicilina y otro antibiótico, y 11,8% resistentes sólo a la penicilina), y a la eritromicina del 64,8% (38,2% resistentes a la eritromicina y otro antibiótico, y 26,5% resistentes sólo a la eritromicina). El 26,5% fueron resistentes a la penicilina y a la eritromicina.

En la Tabla 6 se expone la distribución de las cepas resistentes a la penicilina, a la eritromicina o a ambas en los distintos grupos de edad, y los serotipos más frecuentes. El 78% de las cepas con resistencia elevada a la penicilina (CMI  $\geq$  2 mg/l) se aislaron en los menores de 2 años, mientras que en el grupo de niños mayores de 5 años no se aisló ninguna cepa con resistencia elevada a la penicilina.

**Tabla 6. Número de cepas de *S. pneumoniae* no sensibles a la penicilina, la eritromicina y a ambos antibióticos, distribuidos por grupos de edad y serogrupos más prevalentes.**

Sero-tipo	Resistentes a la penicilina															
	Intermedios (n) CMI 0,12-1 mg/l				Resistentes (n) CMI ≥2 mg/l				Resistentes a la eritromicina (n) CMI ≥1 mg/l				Resistentes a la penicilina y la eritromicina (n)			
	0 a 23 meses	6 a 10 años	11 a 15 años	24 meses a 5 años	0 a 23 meses	6 a 10 años	11 a 15 años	24 meses a 5 años	0 a 23 meses	6 a 10 años	11 a 15 años	24 meses a 5 años	0 a 23 meses	6 a 10 años	11 a 15 años	
19	31	8		2			1	31	11			2				
6	11	9	1	3				13	1	2		3				
23	10	1	1	2			1	10	2			1	1			
14	19	3		2				7	3			1	1			
3	1	1	1	1				1	1							
9	8	1		1				2	1							
11	1			1				1								

## DISCUSIÓN

Las variaciones en el mundo de los serotipos más prevalentes se deben a diferencias geográficas, pero también al tipo de infección, a los periodos de tiempo estudiados, a la edad de los niños considerada e incluso a la frecuencia con que se hacen hemocultivos en los distintos lugares y las posibilidades de diagnóstico microbiológico (17, 22-24).

En nuestro estudio, los serotipos más frecuentes fueron 19, 6, 23, 14, 3, 9 y 11. Esta distribución cambia según el grupo de edad: en los menores de 2 años los más frecuentes son 19, 6, 14 y 23, 9, 11 y 3. El serotipo 19 es el que se aísla con más frecuencia hasta los cinco años; en el grupo de 6 a 10 años el serotipo 3 es el más frecuente y entre los mayores de 10 años es el serotipo 6 (Fig. 2). Esta distribución muestra algunas diferencias con otras zonas de España; así, en el área de Barcelona los más frecuentes son 6, 14, 18, 19, 1, 5, 4, 9, 23 y 33 (8). Con respecto al tiempo, la distribución de los serotipos también cambia; en un estudio nuestro (18) realizado en 1979 y 1980, los serotipos más frecuentes fueron 6, 19, 23 y 3. Igualmente cambia según el tipo de muestra: en las consideradas como invasoras nuestra distribución ha sido 19, 6, 14, 3 y 23 (en 1979-1980 era 6, 14 y 19, 5 y 10), mientras que en Guipúzcoa (13) la distribución es algo diferente, siendo los más frecuentes 14, 18C, 19F, 6B, 19A, 23F y 1. En los exudados óticos los serotipos 9 y 6 los aislamos en el 86,4% de las muestras (en 1979 los más frecuentes eran los serotipos 23 y 6), pero en otros lugares (Europa, Estados Unidos e incluso Argentina) (22, 25) son el 19 y 23 los más frecuentes en este tipo de muestra.

En cuanto a la vacuna, tanto los pediatras españoles como los americanos, entre otros, admiten que la VCN 7-v es un arma eficaz para la prevención de la enfermedad neumocócica en los niños menores de 2 años de edad, sobre todo de meningitis, bacteriemias y neumonías, y en menor grado de la otitis media aguda (26-29).

En distintos países de Europa, Estados Unidos, Canadá, Oceanía y África, con ligeras variaciones, la VCN 7-v actual cubre el 70% a 88% de los serotipos causantes de enfermedad neumocócica invasora, pero esta cobertura es menor en América Central, América Latina y Asia (30). Así, en Estados Unidos, la vacuna conjugada actual cubre globalmente el 80% a 90% de los serogrupos de la enfermedad invasora, pero un 10% a 20% menos en algunos países europeos como España, Reino Unido, Bélgica, Francia y Dinamarca (22).

En un estudio llevado a cabo en niños menores de 15 años con enfermedad neumocócica invasora, la VCN 7-v comprendía entre un 60,5% y un 81% de los serotipos, dependiendo el periodo del estudio, la edad de los niños y considerando o no protección cruzada entre los distintos serotipos

de los serogrupos (13). En el área de Barcelona, la vacuna cubriría el 78% de los casos en los niños de 0 a 14 años, y el 100% de los serogrupos 6, 9, 14, 19 y 23 con resistencia a la penicilina, la eritromicina o la cefotaxima (8, 31); en nuestra zona cubre el 80,1% en los menores de 2 años y el 73,43% de los casos en los niños de 0 a 14 años.

Desde la década de 1980, cuando se detectaron en España las primeras cepas de *S. pneumoniae* con sensibilidad disminuida a la penicilina, y después de diversas variaciones geográficas y un aumento de este tipo de cepas, la resistencia intermedia o completa a la penicilina de *S. pneumoniae* es casi constante en todas las series españolas, estando actualmente alrededor del 40%, superior a la media europea, con mayor oscilación para las cepas con resistencia elevada (5% a 17%); la resistencia a la eritromicina oscila entre el 18% y el 25,5% (en nuestra serie 52,5%), y a la cefotaxima entre el 0% y el 5% (5, 8, 9, 17, 31). Desglosando estos datos, en el estudio de neumonías que cursan con bacteriemia realizado en el área de Barcelona, en niños hasta 15 años, el 40% de las cepas tuvieron sensibilidad intermedia a la penicilina y el 18% a la cefotaxima, siendo el 5% resistentes a la penicilina, el 18% a la eritromicina y el 0% a la cefotaxima (8). En nuestra población, el 50,4% tiene una sensibilidad disminuida a la penicilina y el 5,8% muestra resistencia de alto grado ( $\geq 2$  mg/l), habiendo pasado de un 9% en el periodo de 1979-1980 a la cifra actual (18). De las cepas invasoras, el 55,9% no fueron sensibles a la penicilina. En cuanto a la eritromicina, el 52,5% fueron resistentes, el 64,8% en las cepas invasoras, a diferencia del 0,6% del estudio anterior (18).

Al igual que en otros estudios, los serotipos más resistentes fueron el 6, 14, 19 y 23, y los serotipos 3 y 11 los más sensibles (8, 13, 15). En nuestro caso, el serotipo 14 siempre fue resistente a algún antibiótico. La resistencia a la eritromicina parece estar en fase estable, al menos entre las cepas resistentes a la penicilina, con diferencias en la diseminación de los principales clones en distintas zonas de España (32), y en la resistencia a la penicilina se está observando (31) un ligero descenso en los últimos cinco años, pero no en nuestro caso.

Con estos datos contribuimos a la cada vez más amplia información disponible en España sobre la distribución de los serotipos de *S. pneumoniae* y la sensibilidad a los antibióticos en la población infantil, y podremos observar si con el tiempo se detectan cambios en la prevalencia de las cepas a consecuencia de la vacunación antineumocócica.

## BIBLIOGRAFÍA

- Henrichsen, J. *Epidemiologie des infections pneumococciques en Europe*. Presse Med 1998; 27 (Suppl. 1): 5-8.
- Vaqué, J., Roselló, J., Trilla, A. y cols. *Nosocomial infections in Spain: Results of five nationwide serial prevalence surveys (EPINE project, 1990 to 1994)*. *Nosocomial Infections Prevalence Study in Spain*. Infect Control Hosp Epidemiol 1996; 17: 293-297.
- MacFarlane, J. *The clinical impact of pneumococcal disease*. En: Mayon-White, R. (Ed.). *The clinical impact of pneumococcal disease and strategies for its prevention*. International Congress and Symposium Series, nº 210. Royal Society of Medicine Press, Londres 1995; 9-16.
- Domínguez, A., Salleras, L., Cardena, N. y cols. *The epidemiology of invasive Streptococcus pneumoniae disease in Catalonia (Spain). A hospital-based study*. Vaccine 2002; 20: 2989-2994.
- Oteo, J., Cruchaga, S., Campos, J. y cols. *Resistencia a antibióticos en 622 Streptococcus pneumoniae aislados de líquido cefalorraquídeo y sangre en 33 hospitales españoles de la Red de Vigilancia de Resistencia a Antibióticos (2000)*. Enferm Infec Microbiol Clin 2003; 21: 12-19.
- Pérez Méndez, C., Solís Sánchez, G., Miguel Martínez, D., Iglesias Martínez, P., Viejo Guerra, G., Martín Mardomingo, M.A. *Factores predictivos de enfermedad neumocócica invasora: Estudio de casos y controles*. An Esp Pediatr 2002; 57: 310-316.
- Bernaola, E., Arístegui, J., Herranz, M., García, C., Fernández, C. y Grupo de Estudio de la Enfermedad Neumocócica Invasora en el País Vasco y Navarra. *Estudio de la enfermedad neumocócica invasora entre 0-5 años en el País Vasco y Navarra*. An Esp Pediatr 2002; 57: 301-309.
- Pineda, V., Fontanals, D., Larramona, H., Domingo, M., Antón, J., Segura, F. *Epidemiology of invasive Streptococcus pneumoniae infection in children in an area of Barcelona, Spain*. Acta Paediatr 2002; 91: 1251-1256.
- Casado Flores, J., Fenoll, A., Arístegui Fernández, J., Rodrigo de Liria, C., Martín Sánchez, J.M., Berroón, S. *Meningitis neumocócica en niños españoles: Incidencia, serotipos y resistencia antibiótica. Estudio prospectivo multicéntrico*. An Esp Pediatr 2002; 57: 295-300.
- Sáez-Llorens, X. *Impacto de la infección invasora en niños*. An Esp Pediatr 2002; 57: 391-393.
- Mulholland, K. *Magnitude of the problem of childhood pneumonia*. Lancet 1999; 354: 590-562.
- Casado Flores, J., Arístegui, J., Rodrigo de Liria, C., Martín Sánchez, J.M., Fernández Pérez, C. *Prevalencia de meningitis neumocócica en niños españoles*. An Esp Pediatr 2002; 56: 5-9.
- Iglesias Sánchez, L., Pérez-Yarza, E.G., García-Arenzana, J.M., Valiente Méndez, A., Pérez-Trallero, E. *Epidemiología de la enfermedad invasiva neumocócica en Guipúzcoa (1981-2001)*. An Esp Pediatr 2002; 57: 401-407.
- Soult Rubio, J.A., Rangel Pineda, C., Muñoz Sáez, M. y cols. *Meningitis neumocócica: Características epidemiológicas, clínicas y bacteriológicas*. An Esp Pediatr 2001; 55: 315-320.
- Asensi Botet, F., Otero Reigada, M.C., Pérez Tamarit, D., Gregori Roig, P., Ortí Martín, A. *Meningitis neumocócicas*. An Esp Pediatr 2001; 54: 188.
- Enright, M.C., Fenoll, A., Griffiths, D., Sprant, B.G. *The three major Spanish clones of penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae are the most common clones recovered in recent cases of meningitis in Spain*. J Clin Microbiol 1999; 37: 3212-3216.
- Pineda Solas, V., Pérez Benito, A., Domingo Puiggros, M., Larramona Carrera, H., Segura Porta, F., Fontanals Aymerich, D. *Neumonía neumocócica bacteriémica*. An Esp Pediatr 2002; 57: 408-413.

18. Gobernado, M., Igual, R., Marco, V. y cols. *Infecciones neumocócicas. Epidemiología, serogrupos y resistencias*. Med Clin 1983; 80 (Suppl. 1): 54-59.
19. Oteo, J., Alós, J.I., Gómez Garcés, J.L. *Antimicrobial resistance of Streptococcus pneumoniae isolates in 1999 and 2000 in Madrid, Spain: A multicentre surveillance study*. J Antimicrob Chemother 2001; 47: 215-218.
20. Navarro, C., Egido, P., Aspiroz, C. y cols. *Resistencia a penicilina y otros antimicrobianos en 301 aislamientos clínicos de Streptococcus pneumoniae*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2000; 18: 314-318.
21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*, 5th ed. Approved standard M7-A5. NCCLS, Wayne, PA 2000.
22. Hausdorff, W.P. *Invasive pneumococcal disease in children: Geographic and temporal variations in incidence and serotype distribution*. Eur J Pediatr 2002; 161 (Suppl. 2): 135-139.
23. Hausdorff, W.P., Siber, G., Paradiso, P.R. *Geographical differences in invasive disease rates and serotype frequency in young children*. Lancet 2001; 357: 950-952.
24. Garau, J., Martínez-Lacasa, X. *Resistencia de Streptococcus pneumoniae a los betalactámicos y manejo de la meningitis neumocócica*. Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 21: 3-6.
25. Hausdorff, W.P., Yothers, G., Dagan, R. y cols. *Multinational study of pneumococcal serotypes causing acute otitis media in children*. Pediatr Infect Dis J 2002; 21: 1008-1016.
26. Arístegui Fernández, J., Corretger Rauet, J.M., García Martín, F. y cols., Comité Asesor de Vacunas de la Asociación Española de Pediatría. *La enfermedad neumocócica y su prevención. Vacuna neumocócica conjugada heptavalente*. An Esp Pediatr 2002; 56: 79-90.
27. Black, S., Shinefield, H., Fireman, B. y cols. *Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children*. Northern California Kaiser Permanent Vaccine Study Group. Pediatr Infect Dis J 2000; 19: 187-195.
28. Blanco Queirós, A., Jiménez Sánchez, F., Asensi Botet, F. y cols. *Incidencia de la infección neumocócica invasora en niños menores de dos años. Vacuna neumocócica conjugada heptavalente. Situación en España*. An Esp Pediatr 2002; 57: 287-289.
29. Sauder, K.L. *A pneumococcal conjugate vaccine and acute otitis media*. N Engl J Med 2001; 344: 1720.
30. Hausdorff, W.P., Bryant, J., Paradiso, P.R., Siber, G. *Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease implications for conjugate vaccine formulation and use, part I*. Clin Infect Dis 2000; 30: 100-121.
31. Fenoll, A., Jado, I., Berrón, G. y cols. *Antimicrobial susceptibility and pneumococcal serotypes*. J Antimicrob Chemother 2002; 50 (Suppl. 2): 13-19.
32. García-Rey, C., Bouza, E., Aguilar, L., García de Lomas, J., Baquero, F. *Evolution of penicillin and erythromycin co-resistance in Streptococcus pneumoniae in Spain*. Int J Antimicrob Agents 2003; 22: 541-544.