

Artículo Original

Detección de serotipos y genes de resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* en muestras clínicas de pacientes con enfermedad invasiva en Paraguay

Detection of serotypes and antimicrobial resistance genes of *Streptococcus pneumoniae* in clinical samples of patients with invasive disease in Paraguay

Maria Eugenia Leon Ayala¹ 

Minako Nagai Oji¹ 

Aníbal Kawabata Inoue¹ 

Liliana Rojas Perdomo¹ 

Evelyn Lopez² 

Larissa Elizabeth Capdevila Noguera³ 

Juan Domingo Irala⁴ 

Beatriz Soilan⁵ 

Johana Ramirez Veron⁶ 

Gloria Elizabeth Gómez Duarte⁷ 

Ingrid Carolina Espínola Ulrich⁸ 

Raquel Blasco Gavilan⁹ 

¹Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública. Asunción, Paraguay

²Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Hospital General Pediátrico “Niños de Acosta Ñu”. San Lorenzo, Paraguay

³Instituto de Previsión Social, Hospital Central. Asunción, Paraguay

⁴Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Instituto de Medicina Tropical. Asunción, Paraguay.

⁵Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias y del Ambiente “Prof. Dr. Juan Max Boettner”. Asunción, Paraguay.

Autor de Correspondencia: Minako Nagai Oji. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública. Asunción Paraguay. Correo electrónico: minitanagai@yahoo.es

Artículo recibido: 16 de octubre de 2024. **Artículo aprobado:** 23 de mayo de 2025

 Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de [Licencia de Atribución Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), que permite uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que se acredite el origen y la fuente originales.

Como citar este artículo: León Ayala ME, Nagai Oji M, Kawabata Inoue A, Rojas Perdomo L, López E, Capdevila Noguera LE, et al. Detección de serotipos y genes de resistencia antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* en muestras clínicas de pacientes con enfermedad invasiva en Paraguay. Rev. Nac. (Itaiguá). 2025;17:e1700114.

⁶Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Hospital Regional Encarnación. Encarnación, Paraguay.

⁷Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro Médico Nacional-Hospital Nacional. Itaiguá, Paraguay

⁸Instituto de Previsión Social. Ciudad del Este, Paraguay.

⁹Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Hospital Regional Ciudad del Este. Ciudad del Este, Paraguay.

Editor responsable: Martha Rosa Lourdes Marín Ricart . Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Centro Médico Nacional- Hospital Nacional, Departamento de Docencia e Investigación. Itaiguá, Paraguay.

Revisor 1: Nathalia Paola Navarro Trevisan . Universidad Nacional de Asunción. San Lorenzo, Paraguay.

Revisor 2: Luis Antonio Merino . Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina.

RESUMEN

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* es el agente etiológico responsable de enfermedades invasivas graves como neumonías bacterianas adquiridas en la comunidad, sepsis y meningitis. Sigue siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en niños y adultos alrededor del mundo. Los datos de serotipos y perfil de resistencia antimicrobiana proporcionaron información relevante para fundamentar las directrices de tratamiento y las políticas de vacunación.

Objetivos: detectar serotipos y genes de resistencia antimicrobiana en muestras clínicas de niños y adultos con enfermedad invasiva causada por *Streptococcus pneumoniae* en Paraguay en el año 2023.

Metodología: estudio descriptivo retrospectivo de corte transversal. Se estudiaron todas las muestras clínicas (n = 145) de pacientes con enfermedad invasiva por *Streptococcus pneumoniae* que no fueron aisladas en cultivos bacteriológicos provenientes de los centros centinela y colaboradores en el marco de la vigilancia de meningitis y neumonías de Paraguay durante el año 2023.

Resultados: se identificaron 20 serotipos, siendo los más frecuentes el serotipo 3 en 56,5 %, el 19A en 11,0 % y el 15A/15F en 4,1 %. En el serotipo 3 se detectó el gen *pbp2b* en 96,3 %, *ermB* 18,3 %, *mefA* en 6,1 % y *tetMen* 74,4 %, en el serotipo 19A el gen *pbp2b* en 12,5 %, *ermB* en 75,0 %, *mefA* en 50,0 % y *tetMen* 81,2 %, el serotipo 15A/15F el gen *pbp2b* en 83,3 %, *ermB* en 66,7 %, *mefA* en 16,7 % y *tetM* en 83,3 %.

Conclusión: se detectó un alto porcentaje de *pbp2b* lo que indica una alta susceptibilidad a la penicilina, sin embargo, también se observó alta resistencia a tetraciclina relacionada con el serotipo 3 y resistencia a macrólidos relacionada a los serotipos 19A y 15A/15F. Técnicas moleculares aplicadas directamente al material clínico tienen el potencial de detectar el organismo infectante y determinar su susceptibilidad a los antimicrobianos, facilitando así la terapia oportuna e intervención con antibióticos adecuados.

Palabras clave: *Streptococcus pneumoniae*, serotipos, genes de resistencia, Paraguay.

ABSTRACT

Introduction: *Streptococcus Pneumoniae* is the etiologic agent responsible for serious invasive diseases, such as community-acquired bacterial pneumonia, sepsis, and meningitis. It remains one of the most important causes of morbidity and mortality in children and adults worldwide. Data on serotypes and antimicrobial resistance profiles provide relevant information to inform treatment guidelines and vaccination policies.

Objectives: to detect serotypes and antimicrobial resistance genes in clinical samples from children and adults with invasive disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in Paraguay during 2023.

Methods: this was a retrospective, cross-sectional and descriptive study. All clinical samples (N=145) from patients with invasive *Streptococcus pneumoniae* disease that were not isolated in bacteriological cultures from sentinel and collaborating centers were studied as part of meningitis and pneumonia surveillance in Paraguay during 2023.

Results: twenty serotypes were identified, the most frequent being serotype 3 in 56.5%, 19A in 11.0%, and 15A/15F in 4.1%. In serotype 3, the *pbp2b* gene was detected in 96.3% of cases, *ermB* in 18.3%, *mefA* in 6.1%, and *tetMen* in 74.4%; in serotype 19A, the *pbp2b* gene was detected in 12.5% of cases, *ermB* in 75.0%, *mefA* in 50.0%, and *tetMen* in 81.2%; in serotype 15A/15F, the *pbp2b* gene was detected in 83.3% of cases, *ermB* in 66.7%, *mefA* in 16.7%, and *tetM* in 83.3%.

Conclusion: a high percentage of pbp2b was detected, indicating high susceptibility to penicillin. However, high tetracycline resistance was also observed in serotype 3 and macrolide resistance in serotypes 19A and 15A/15F. Molecular techniques applied directly to clinical material have the potential to detect the infecting organism and determine its susceptibility to antimicrobials, thus facilitating timely therapy and intervention with appropriate antibiotics.

Keywords: *streptococcus pneumoniae*, serotypes, resistance genes, Paraguay.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad neumocócica invasiva (ENI) sigue siendo un problema de salud pública en todo el mundo⁽¹⁾, con una alta incidencia mundial y una morbilidad y mortalidad elevadas^(2,3). Los niños pequeños y las personas mayores son los grupos de edad más afectados, con más de 300 000 muertes cada año atribuibles a *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) en niños menores de 5 años en todo el mundo, y más de 690 000 muertes en adultos mayores de 70 años en 195 países en 2015^(4,5). La cápsula polisacárida, está asociada con la virulencia y según su composición, se clasifica en más de 100 serotipos⁽⁶⁾. En 2017, la OMS incluyó a *S. pneumoniae* como uno de los 12 patógenos prioritarios⁽⁷⁾.

Actualmente, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) estiman que aproximadamente el 30 % de los casos de ENI son causados por aislamientos de *S. pneumoniae* resistentes a 1 o más antibióticos clínicamente relevantes⁽⁸⁾. A nivel mundial, es el cuarto patógeno principal en términos de muertes asociadas o atribuibles a la resistencia antimicrobiana⁽⁹⁾.

Los antibióticos β -lactámicos se recomiendan como tratamiento primario de las infecciones neumocócicas, sin embargo *S. pneumoniae* ha desarrollado resistencia a múltiples antibióticos, incluidos penicilina, macrólidos, fluoroquinolonas y sulfametoxazol-trimetoprima, lo que puede afectar el tratamiento⁽¹⁰⁾.

Algunos serotipos están asociados con la enfermedad invasiva y los serotipos vacunales, como 6B, 9V, 14, 19A, 19F y 23F, tienen más probabilidades que otros de ser resistentes a los antimicrobianos⁽¹¹⁾.

En 2017, el Ministerio de Salud y Bienestar Social de Paraguay introdujo la vacuna PCV13 (1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F, 23F, 3, 6A y 19A) al esquema regular de vacunación del Programa

Ampliado de Inmunizaciones, utilizando el esquema de tres dosis (esquema 2+1): dos dosis primarias en niños <1 año (2–11 meses) y un refuerzo al año de edad (12 meses o 6 meses después de la segunda dosis)⁽¹²⁾.

Además del diagnóstico preciso, es importante la información sobre el perfil de resistencia a los antibióticos. Esto puede conducir a un buen pronóstico para el paciente, así como a ampliar la información epidemiológica para la vigilancia de la salud pública⁽¹³⁾.

El objetivo de este estudio fue detectar serotipos y genes de resistencia antimicrobiana en muestras clínicas de niños y adultos con enfermedad invasiva causada por *S. pneumoniae* en Paraguay en el año 2023.

METODOLOGÍA

Estudio descriptivo, retrospectivo de corte transversal. Se estudiaron en el Laboratorio Central de Salud Pública, 145 muestras clínicas de niños y adultos (27 muestras de LCR y 118 de líquido pleural) con enfermedad neumocócica invasiva, confirmadas con la detección del gen *lytA* (específico de *Streptococcus pneumoniae*) por PCR en tiempo real y cuyo aislamiento resulto negativo (sin crecimiento bacteriano), en el marco de la vigilancia nacional de meningitis y neumonías en Paraguay durante el año 2023.

Identificación y caracterización molecular

La extracción de ADN se realizó utilizando columnas Qiagen DNA Mini kit (Qiagen, Valencia, CA, EE. UU), según indicaciones del fabricante. La identificación de *Streptococcus pneumoniae* a partir de muestras que no desarrollaron en cultivos microbiológicos se realizó por PCR en tiempo real detectando el gen *lytA*⁽¹⁴⁾. La serotipificación de muestras se realizó con una combinación de PCR multiplex dirigidas a serotipos como se describió anteriormente⁽¹⁵⁾.

Se utilizaron cebadores y sondas para la detección de resistencia a penicilina, macrólidos y tetraciclina (*pbp2a*, *ermB*, *mefA* y *tetM*) y alelos de tipo salvaje de *pbp2b* típicamente asociados con la susceptibilidad a la penicilina, descritos previamente por Velusamy *et al*⁽¹⁶⁾.

Análisis de datos

Base de datos formato Microsoft Excel adecuado al programa Stata 11.0 (Stata Statistical Software: Release 11. CollegeStation, TX: StataCorp LP). Este estudio se limitó a la descripción de los datos, sin incluir ningún análisis de inferencia estadística. Se realizaron los cálculos de proporciones de frecuencias absolutas y de porcentaje.

Aspectos éticos

La revisión y aprobación del protocolo de investigación fue realizada por parte del Comité de Ética en Investigación del Laboratorio Central de Salud Pública (Dictamen CEILCSP 257-2024). En todo momento se respetó la confidencialidad de los datos que consignan a la persona y a los datos solo pudieron acceder los investigadores, cumpliendo este estudio con la Declaración de Helsinki de la Asociación Medica Mundial con respecto a las conductas éticas en las investigaciones con los seres humanos.

RESULTADOS

Se encontró mayor frecuencia de enfermedad invasiva en niños <5 años (57,2 %), seguida de niños de 5-10 años (28,2 %). El 81,4 % corresponde a casos de neumonías y 18,6 % a meningitis. Se identificaron un total de 20 serotipos, siendo los más frecuentes el serotipo 3 en 56,5 % (n = 71), el 19A en 11,0 % (n = 16) y el 15A/15F en 4,1 % (n = 6). (Tabla 1). El 76,6 % corresponde a los serotipos incluidos en la PCV13 y el 23,4 % a serotipos no vacunales. (Figura 1).

Tabla 1: Características demográficas de pacientes con enfermedad neumocócica. 2023.

Edad en años	Total n (%)	Sexo		Diagnóstico	
		f	m	Meningitis	Neumonías
< 5	83 (57,2)	45 (54,2)	38 (45,8)	5 (6,0)	78 (94,0)
5-10	41 (28,2)	19 (46,3)	22 (53,7)	3 (7,3)	38 (92,7)
11-15	5 (3,4)	2 (40,0)	3 (60,0)	4 (80,0)	1 (20,0)
16-20	3 (2,1)	1 (33,3)	2 (66,7)	3 (100,0)	0 (0,0)
21-25	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
26-30	2 (1,4)	0 (0,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	0 (0,0)
31-35	1 (0,7)	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
36-40	1 (0,7)	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
41-45	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
46-50	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
51-55	3 (2,1)	0 (0,0)	3 (100,0)	2 (66,7)	1 (33,3)
56-60	2 (1,4)	1 (50,0)	1 (50,0)	2 (100,0)	0 (0,0)
61-65	3 (2,1)	0 (0,0)	3 (100,0)	3 (100,0)	0 (0,0)
> 65	1 (0,7)	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)

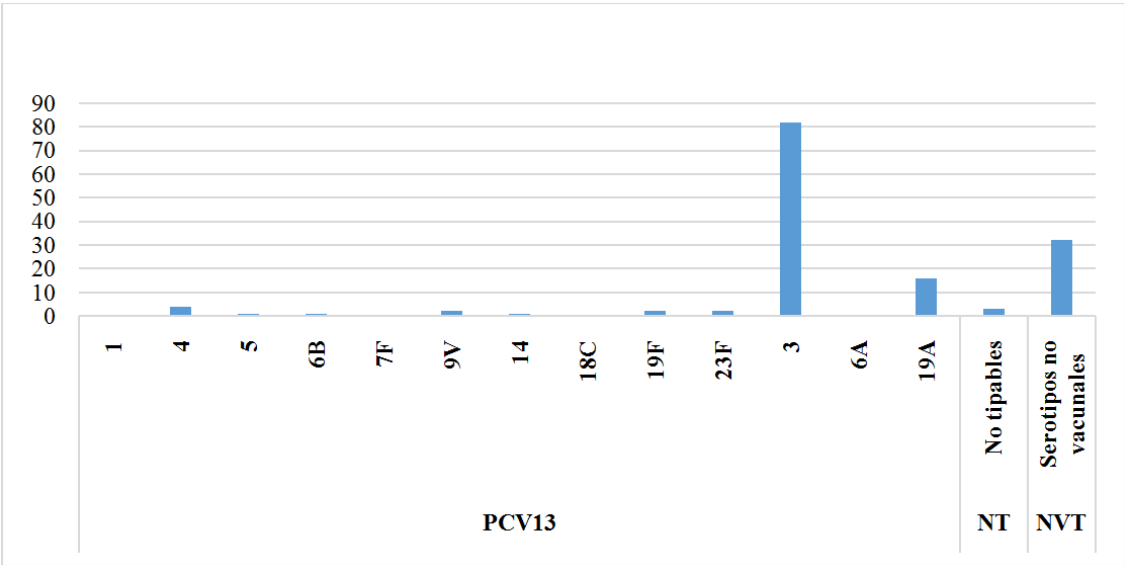


Figura 1: Distribución de serotipos en enfermedad invasiva

Se detectaron los genes *pbp2b* en 79,3 % (n = 115), *tetM* en 65,5 % (n = 95), *ermB* en 28,3 % (n = 41) y *mefA* en 15,9 % (n = 23), *ermB* más *mefA* en 10,3 % (n = 15) y *tetM* más *ermB* más *mefA* y sin detección de *pbp2b* que predice susceptibilidad a penicilina en 8,3 % (n = 12). No se detectó el gen *pbp2a*.

El patrón de resistencia de *ermB/mefA/tetM* se encontró con más frecuencia en el grupo de edad de niños de 1 a 5 años (8,3 %).

En el serotipo 3 se detectó el gen *pbp2b* en 96,3 % (n = 79), *ermB* 18,3 % (n = 15), *mefA* en 6,1 % (n = 5) y *tetM* en 74,4 % (n = 61), en el serotipo 19A el gen *pbp2b* en 12,5 % (n = 2), *ermB* en 75,0 % (n = 12), *mefA* en 50,0 % (n = 8) y *tetM* en 81,2 % (n = 13), el serotipo 15A/15F el gen *pbp2b* en 83,3 % (n = 5), *ermB* en 66,7 % (n = 4), *mefA* en 16,7 % (n = 1) y *tetM* en 83,3 % (n = 5). (Tabla 2).

Tabla 2: Genes de resistencia asociados a serotipos de *Streptococcus pneumoniae*.

Serotipos	Total	pbp2a		pbp2b		ermB		mefA		tetM	
	n	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
3	82 (56,5)	0	0.0	79	96,3	15	18.3	5	6.1	61	74.4
4	4 (2,8)	0	0.0	3	75.0	0	0.0	0	0.0	2	50.0
5	1 (0,6)	0	0.0	1	100.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0
6A/6B	1 (0,6)	0	0.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0	1	100.0
6C/6D	3 (2,1)	0	0.0	0	0.0	1	33.3	2	66.7	2	66.7
9V/9A	2 (1,4)	0	0.0	2	100.0	1	50.0	0	0.0	1	50.0
9L/9N	1 (0,6)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	100.0
10A/10D	1 (0,6)	0	0.0	1	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
11A/11D	4 (2,7)	0	0.0	4	100.0	0	0.0	1	25.0	0	0.0
12F/12B/12A	5 (3,3)	0	0.0	4	80.0	0	0.0	1	20.0	3	60.0
13	3 (2,1)	0	0.0	3	100.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
14	1 (0,6)	0	0.0	1	100.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0
15A/15F	6 (4,1)	0	0.0	5	83.3	4	66.7	1	16.7	5	83.3
19A	16 (11,0)	0	0.0	2	12.5	12	75.0	8	50.0	13	81.2
19F	2 (1,4)	0	0.0	2	100.0	1	50.0	0	0.0	1	50.0
22A/22F	4 (2,7)	0	0.0	4	100.0	3	75.0	1	25.0	1	25.0
23A	2(1,4)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	50.0	1	50.0
23B	1 (0,6)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
23F	2 (1,4)	0	0.0	2	100.0	1	50.0	1	50.0	1	50.0
33A/33F37	2 (1,4)	0	0.0	0	0.0	1	50.0	1	50.0	1	50.0
NT*	3 (2,1)	0	0.0	1	33.3	1	33.3	0	0.0	1	33.3

* NT (negativo a los 48 serotipos incluidos en la PCR real time)

DISCUSIÓN

Este estudio presenta un análisis de muestras de enfermedad neumocócica invasiva de Paraguay, centrándose en los serotipos y genes de resistencia a los antimicrobianos.

El diagnóstico microbiológico es difícil ya que los cultivos son lentos y frecuentemente negativos debido al uso previo de antibióticos. La metodología qPCR está bien caracterizada para detectar *lytA* de *S. pneumoniae* en muestras después de la administración de antibióticos⁽¹⁷⁾. Como se informó previamente en Portugal y en otros países, donde encontraron que los cultivos de líquido pleural o sangre con frecuencia son negativos y que los métodos que no incluyen al cultivo son esenciales para identificar la etiología de la mayoría de los casos⁽¹⁸⁻²⁰⁾.

El aumento del uso de antibióticos, la diseminación de varios clones resistentes, la capacidad del neumococo de sufrir reemplazo de serotipo, cambio capsular y la transmisión horizontal de genes de resistencia a los antibióticos hacen que este patógeno sea muy difícil de controlar⁽²¹⁾.

Los resultados mostraron una alta frecuencia de serotipos incluidos en la PCV13, en consonancia con estudios en Brasil, donde fueron prevalentes 19A, 3 y 6C (<5 años y > 50 años)⁽²²⁾, en Colombia, 19A (51,3 %), 6C (7,7 %), 3 (6,7 %), 6A (3,6 %) y 14 (3,6 %)⁽²³⁾ y en España, el serotipo 19A en <2 años, el serotipo 3 en el grupo de edad de 2 a 4 y el serotipo 1 en el grupo de edad de 5 a 17 años⁽²⁴⁾.

Las vacunas conjugadas han eliminado con éxito múltiples serotipos, sin embargo, el serotipo 3 ha persistido a pesar de su inclusión en la PCV13⁽²⁵⁾, debido a una menor actividad inmunogénica y menor protección individual contra el serotipo 3⁽²⁶⁾. Esto podría explicar la alta frecuencia del serotipo 3, al igual que en otro estudio realizado en muestras pediátricas de líquido pleural con cultivo negativo, obtenidas en la Comunidad de Madrid entre 2018 y 2022⁽²⁷⁾.

La elevada frecuencia de pbp2b en este estudio predice una alta sensibilidad a betalactámicos similar a lo encontrado en un estudio prospectivo realizado en muestras de líquido pleural de niños de hasta 18 años ingresados en la Unidad de Neumología Pediátrica del Hospital de Niños Santo Antônio en Porto Alegre, Brasil (pbp2b 87,5 %)⁽¹⁷⁾.

La resistencia a los macrólidos en *S. pneumoniae* se asocia con el uso generalizado de antibióticos⁽²⁸⁾. El gen *mefA* produce una resistencia de bajo nivel, mientras que el gen *ermB*, solo o con *mefA*, suele estar asociado con una resistencia de alto nivel. La resistencia a macrólidos varía según áreas geográficas; los aislamientos neumocócicos norteamericanos tienen una mayor tendencia a albergar *mefA*, igual que los aislamientos europeos *mefA* era más común en el Reino Unido (70,8 %), Grecia (66,2 %), Australia (59,5 %), Finlandia (55,4 %) y Alemania (53,2 %)⁽²⁵⁾; sin embargo, *ermB* era común en Bélgica (91,5 %), Francia (90 %), España (88,3 %), Serbia (82,4 %), Polonia (80,8 %) e Italia (55,8 %)^(29,30).

Observamos una mayor frecuencia de *ermB* que de *mefA* en muestras de Paraguay coincidiendo con otros estudios donde el mecanismo más común de resistencia a macrólidos en cepas invasivas fue *ermB* en un alto porcentaje^(31, 32), sin embargo, en Argentina, 41/72 fueron positivos para *mefA*, 23/72 para *ermB*, 8/72 para *ermB* más *mefA* y no se detectaron ni *ermB* ni *mefA* en cinco aislamientos⁽³³⁾.

Elevados porcentajes de genes *tetM*, *ermB* y *mefA* fueron detectados en el serotipo 19A a diferencia de otro estudio realizado en aislados de serotipo 19A en Argentina, donde la mayoría portaban el gen *mefA* (82,1 %), siendo 8 de ellos positivos tanto para *ermB* como para *mefA* con fenotipo MLSB⁽³⁴⁾. Estos resultados son similares a la resistencia a macrólidos encontrada en Perú donde fue más común en aislados del serotipo 19A (80 % y 90 % entre cepas portadoras y con enfermedad neumocócica invasiva, respectivamente)⁽³¹⁾. Otros serotipos (11A, 19A, 22F y 23B) se correlacionaron significativamente con la presencia de genes de resistencia a macrólidos⁽³⁵⁾.

Estudios realizados en Asia, España y Estados Unidos, mostraron un fenotipo alto de MDR en los aislados de *S. pneumoniae* del serotipo 19A⁽³⁴⁾.

Una de las limitaciones del presente trabajo fue la escasa disponibilidad de información del estado vacunal de los pacientes. Otra limitación potencial es el almacenamiento prolongado de las muestras clínicas que pueden afectar la integridad del ADN, además los protocolos de PCR incluyen un número limitado de serotipos, dificultando la detección de todos los serotipos.

CONCLUSIÓN

Nuestros datos indicaron que los serotipos incluidos en la vacuna PCV13 siguen siendo prevalentes y que la presencia de genes de resistencia a tetraciclina y macrólidos es elevada.

Se detectó un alto porcentaje de *pbp2b* lo que indica una alta susceptibilidad a la penicilina, sin embargo, también se observó alta resistencia a tetraciclina relacionada con el serotipo 3 y resistencia a macrólidos relacionada a los serotipos 19A y 15A/15F.

Técnicas moleculares aplicadas directamente al material clínico tienen el potencial de detectar el organismo infectante y determinar su susceptibilidad a los antimicrobianos, facilitando así la terapia oportuna e intervención con antibióticos adecuados y permitiendo una vigilancia integral de la resistencia antimicrobiana.

Agradecimientos

La realización de este trabajo fue apoyada por subvenciones del Fondo para la Convergencia Estructural del Mercosur (FOCEM) - Mercosur, convenio FOCEM N° 03/11 Proyecto "Investigación, Educación y Biotecnologías Aplicadas a la Salud (COF 03/11).

Conflicto de interés

Los investigadores declaran no tener conflicto de interés.

Fuente de financiamiento

Financiado por los autores.

Disponibilidad de datos

Los datos están disponibles a través de una solicitud al autor correspondiente.

Correo electrónico: minitanagai@yahoo.es

Nota del editor jefe

Todas las afirmaciones expresadas, en este manuscrito, son exclusivamente las de los autores y no representan necesariamente las de sus organizaciones afiliadas, ni las del editor, los editores responsables y los revisores. Cualquier producto que pueda ser evaluado en este artículo, o afirmación que pueda hacer su fabricante, no está garantizado ni respaldado por el editor.

Declaración de contribución de autores:

León ME, Nagai M: concepción y diseño del trabajo de investigación, recopilación de datos y muestras experimentales, análisis los datos secuenciados y generales, y redacción del borrador y versión final del manuscrito.

Kawabata A; Rojas L,: diseño, supervisión, análisis de datos y revisión del manuscrito.

López E, Capdevila L, Irala J., Soilán B, Ramírez J, Gómez G, Espínola I y Blasco R: preparación y envío de muestras clínicas y datos epidemiológicos, análisis de datos y revisión del manuscrito.

Los autores están en pleno conocimiento del contenido final del manuscrito y autorizan su publicación en la Revista del Nacional (Itauguá).

REFERENCIAS

1. Cedrone F, Montagna V, Del Duca L, Camplone L, Mazzocca R, Carfagnini F, *et al.* The burden of *Streptococcus pneumoniae*-related admissions and in-hospital mortality: a retrospective observational study between the years 2015 and 2022 from a Southern Italian Province. *Vaccines* (Basel). 2023;11(8):1324. doi: 10.3390/vaccines11081324.
2. Thadchanamoorthy V, Dayasiri K. Review on pneumococcal infection in children. *Cureus*. 2021;13(5): e14913. doi: 10.7759/cureus.14913.
3. Martinez-Vega R, Jauneikaite E, Thoon KC, Chua HY, HuishiChua A, Khong WX, *et al.* Risk factor profile sand clinical outcomes for children and adults with pneumococcal infections in Singapore: a need to expand vaccination policy? *PLoS ONE*. 2019;14(10): e0220951. doi: 10.1371/journal.pone.0220951.

4. Wahl B, O'Brien KL, Greenbaum A, Majumder A, Liu L, Chu Y, *et al.* 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. *Lancet Global Health*. 2018;6(7): e744–57. doi: 10.1016/S2214-109X(18)30247-X.
5. GBD 2015 LRI Collaborators. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and etiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(11): 1133–61. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30396-1.
6. Ganaie F, Saad JS, McGee L, van Tonder AJ, Bentley SD, Lo SW, *et al.* A new pneumococcal capsule type, 10D, is the 100th serotype and has a large cps fragment from an oral streptococcus. *ASM Journals. mBio*. 2020;11(3):e00937-20. doi: 10.1128/mBio.00937-20.
7. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol*. 2018;16(6):355–367. doi: 10.1038/s41579-018-0001-8.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/media/pdfs/2019-ar-threats-report-508.pdf>
9. Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 2022;399(10325):629–55. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
10. Li L, Ma J, Yu Z, Li M, Zhang W, Sun H. Epidemiological characteristics and antibiotic resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*: an updated review. *Microbiol Res*. 2023;266:127221. doi: 10.1016/j.micres.2022.127221.
11. Ktari S, Ben Ayed N, Ben Rbeh I, Garbi N, Maalej S, Mnif B, *et al.* Antibiotic resistance pattern, capsular types, and molecular characterization of invasive isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the south of Tunisia from 2012 to 2018. *BMC Microbiol*. 2023;23(1):36. doi: 10.1186/s12866-023-02784-2.
12. León ME, Samudio M, Kawabata A, Nagai M, Rojas L, Zárate N, *et al.* Serotypes and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* in children under 5 years of age pre- and post-pneumococcal conjugate vaccine introduction in Paraguay. *J Med Microbiol*. 2023;72(6):001700. doi: 10.1099/jmm.0.001700.
13. Souza MB, Cergole-Novella MC, Molinari DA, Colpas DR, Carmo AMdS, Daros VdSMG, *et al.* Multiplex real-time PCR using SYBR Green: unspecific intercalating dye to detect antimicrobial resistance genes of *Streptococcus pneumoniae* in cerebrospinal fluid. *PLoS ONE*. 2022;17(6): e0269895. doi: 10.1371/journal.pone.0269895.

14. Ouattara M, Whaley MJ, Jenkins LT, Schwartz SB, Traoré RO, Diarra S, *et al.* Triplex real-time PCR assay for the detection of *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* and *Haemophilus influenzae* directly from clinical specimens without extraction of DNA. *Diag Microbiol Infect Dis.* 2019;93(3):188-190. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.008.
15. Pai R, Gertz RE, Beall B. Sequential multiplex PCR approach for determining capsular serotypes of *Streptococcus pneumoniae* isolates. *J Clin Microbiol.* 2006;44(1):124-31. doi: 10.1128/JCM.44.1.124-131.2006.
16. Velusamy S, Tran T, Mongkolrattanothai T, Walker H, McGee L, Beall B. Expanded sequential quadriplex real-time polymerase chain reaction (PCR) for identifying pneumococcal serotypes, penicillin susceptibility, and resistance markers. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2020;97(2):115037. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115037.
17. Pizzutti K, Perez VP, Barbiero C, d'Azevedo PA, Fischer GB, Dias C. Identifying pneumococci in parapneumonic pleural effusion: is there a role for culture-independent methods? *Pediatric Pulmonol.* 2020;55(2): 484–489. doi: 10.1002/ppul.24568.
18. Silva-Costa C, Gomes-Silva J, Pinho MD, Friães A, Ramirez M, Melo-Cristino J. Continued vaccine breakthrough cases of serotype 3 complicated pneumonia in vaccinated children, Portugal (2016–2019). *Microbiol Spectr.* 2022;10(4):e01077-22. doi: 10.1128/spectrum.01077-22.
19. Strachan R, Homaira N, Beggs S, Bhuiyan MU, Gilbert GL, Lambert SB, *et al.* Assessing the impact of the 13 valent pneumococcal vaccine on childhood empyema in Australia. *Thorax.* 2021; 76(5):487–493. doi: 10.1136/thoraxjnl-2020-216032.
20. Goettler D, Streng A, Kemmling D, Schoen C, von Kries R, Rose MA, *et al.* Increase in *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 associated parapneumonic pleural effusion/empyema after the introduction of PCV13 in Germany. *Vaccine.* 2020;38(3):570–577. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.10.056.
21. Cillóniz C, Garcia-Vidal C, Ceccato A, Torres A. Antimicrobial Resistance Among *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Resistance in the 21st Century.* 2018;7:13–38. doi: 10.1007/978-3-319-78538-7_2.
22. Almeida SCG, Lemos APS, Bierrenbach AL, Moraes JC, Brandileone MCC. Serotype Distribution and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Streptococcus pneumoniae* in COVID-19 Pandemic Era in Brazil. *Microorganisms.* 2024; 17;12(2):401. doi: 10.3390/microorganisms12020401.

23. Camacho-Moreno G, Leal AL, Patiño-Niño J, Vasquez-Hoyos P, Gutiérrez I, Beltrán S, *et al.* Serotype distribution, clinical characteristics, and antimicrobial resistance of pediatric invasive pneumococcal disease in Colombia during PCV10 mass vaccination (2017–2022). *Front Med (Lausanne)*. 11:1380125. doi: 10.3389/fmed.2024.1380125.
24. Izquierdo C, Ciruela P, Hernández S, García-García JJ, Esteva C, Moraga-Llop F, *et al.* Pneumococcal serotypes in children, clinical presentation and antimicrobial susceptibility in the PCV13 era. *Epidemiol Infect.* 2020;148:e279. doi:10.1017/S0950268820002708.
25. Kwun MJ, Ion AV, Cheng HC, D'Aeth JC, Dougan S, Oggioni MR, *et al.* Post-vaccine epidemiology of serotype 3 pneumococci identifies transformation inhibition through prophage-driven alteration of a non-coding RNA. *Genome Med.* 2022;14(1):144. doi: 10.1186/s13073-022-01147-2.
26. Savulescu C, Krizova P, Valentiner-Branth P, Ladhani S, Rinta-Kokko H, Levy C, *et al.* Effectiveness of 10 and 13-valent pneumococcal conjugate vaccines against invasive pneumococcal disease in European children: SpIDnet observational multicentre study. *Vaccine*. 2022; 40(29): 3963-3974. doi: 10.1016/j.vaccine.2022.05.011.
27. Pérez-Abeledo M, Zaragoza G, Ramos B, Sanz JC. High frequency of *Streptococcus pneumoniae* serotype 3 in negative pleural fluid cultures from paediatric samples obtained in the Madrid region from 2018 to 2022, detected by direct identification using PCR-reverse-hybridization strip-based assay. *Enferm Infecc Microbiol Clin (EIMC)*. 2023;41(7): 447-448. doi: 10.1016/j.eimce.2023.02.005.
28. Zahari NIN, EngkuAbd Rahman ENS, Irekeola AA, Ahmed N, Rabaan AA, Alotaibi J, *et al.* A Review of the resistance mechanisms for β -lactams, macrolides and fluoroquinolones among *Streptococcus pneumoniae*. *Medicina (Kaunas)*. 2023;31;59(11):1927. doi: 10.3390/medicina59111927.
29. Hasanuzzaman M, Malaker R, Islam M, Baqui AH, Darmstadt GL, Whitney CG, *et al.* Detection of macrolide resistance genes in culture-negative specimens from Bangladeshi children with invasive pneumococcal diseases. *J Glob Antimicrob Resist.* 2017;8:131–134. doi:10.1016/j.jgar.2016.11.009.
30. Zhou X, Liu J, Zhang Z, Cui B, Wang Y, Zhang Y, *et al.* Characterization of *Streptococcus pneumoniae* macrolide resistance and its mechanism in northeast china over a 20-year period. *Microbiol Spectr.* 2022;10(5):e00546-22. doi: 10.1128/spectrum.00546-22.

31. Gonzales BE, Mercado EH, Pinedo-Bardales M, Hinostroza N, Campos F, Chaparro E, *et al.* Increase of macrolide-resistance in *Streptococcus pneumoniae* strains after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Lima, Peru. *Front Cell Infect Microbiol.* 2022;12:866186. doi: 10.3389/fcimb.2022.866186.
32. Beheshti M, Jabalameli F, Feizabadi MM, Bonakdar Hahsemi F, Beigverdi R, Emaneini M. Molecular characterization, antibiotic resistance pattern and capsular types of invasive *Streptococcus pneumoniae* isolated from clinical samples in Tehran, Iran. *BMC Microbiol.* 2020;20(1):167. doi: 10.1186/s12866-020-01855-y.
33. Galletti P, Lo SW, Hawkins PA, Gladstone RA, Regueira M, Faccone D, *et al.* Population genetic structure, serotype distribution and antibiotic resistance of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in Argentina. *Microb Genom.* 2021;7(9):000636. doi: 10.1099/mgen.0.000636.
34. Galletti P, Faccone D, Reijtma V, Fossati S, Rodriguez M, Veliz O, *et al.* Characterization of *Streptococcus pneumoniae* invasive serotype 19A isolates from Argentina (1993–2014). *Vaccine.* 2017;35(35):4548-4553. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.07.030.
35. Nakao T, Kosai K, Akamatsu N, Ota K, Mitsumoto-Kaseida F, Hasegawa H, Izumikawa K, *et al.* Molecular and phenotypic characterization of *Streptococcus pneumoniae* isolates in a Japanese tertiary care hospital. *Front Cell Infect Microbiol.* 2024;14:1391879. doi: 10.3389/fcimb.2024.1391879.