

Colonización nasofaríngea por serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en niños uruguayos antes y después de la introducción de las vacunas antineumocócicas conjugadas

Nasopharyngeal colonization from *Streptococcus pneumoniae* serotypes in Uruguayan children before and after pneumococcal conjugate vaccines

Colonização nasofaríngea por sorotipos de *Streptococcus pneumoniae* em crianças uruguaias antes e após da introdução de vacinas pneumocócicas conjugadas

Coral Fernández¹, Gabriela García², Teresa Camou³, María Albini⁴, María Hortal⁵

Resumen

Las vacunas conjugadas neumocócicas (VCN) son efectivas para el control de las infecciones severas en niños y también limitan la colonización nasofaríngea por los serotipos que integran sus fórmulas. En Uruguay, no se dispone de publicaciones recientes sobre los serotipos albergados en el reservorio nasofaríngeo de los niños, ni antes ni luego de la introducción de las VCN. Con el objetivo de caracterizar la colonización nasofaríngea de niños menores de 2 años y describir los serotipos de *S. pneumoniae* identificados antes y después de la introducción de las vacunas conjugadas antineumocócicas en el certificado esquema de vacunación (CEV) de Uruguay, se llevó a cabo un estudio descriptivo, retrospectivo, incluyendo tres períodos de tiempo: años 2002- 2003 y 2014-2015 en Paysandú, y 2012-2013 en Montevideo. Los aislamientos de *S. pneumoniae* se realizaron en laboratorios locales y la serotipificación por “quellung”

se efectuó en el Departamento de Laboratorios de Salud Pública. Se procesaron 831 muestras, con 54,8% de recuperación de neumococos ($n=456$), de los cuales 223 fueron tipificados. El estudio previo a la vacunación mostró portación de serotipos invasores, con predominio de los serotipos 6A, 6B, 14 y 19F, todos incluidos en la vacuna 13-valente. En los niños de la policlínica de HIV, la colonización por neumococos invasores fue mucho menor, y el otro estudio, también posvacunación, evidenció la casi desaparición de cepas invasoras (6/93), con predominio de serotipos poco habituales, lo que constituyó un llamado de atención para instrumentar una vigilancia que monitorice la dinámica de la colonización infantil.

Palabras clave: Streptococcus pneumoniae
Vacuna neumocócica
Inmunidad colectiva

1. Prof. Adj. Coordinadora CEO-Salud. CENUR Litoral Norte. UDELAR

2. Responsable Sector Infecciones Respiratorias. Unidad Bacteriología. Depto. Laboratorios Salud Pública. MS.

3. Jefe Unidad Bacteriología. Depto. Laboratorios Salud Pública. MS.

4. Bacteriología Laboratorio Patología Clínica. CHPR.

5. Investigador. Programa Desarrollo Ciencias Básicas (PEDECIBA). UDELAR.

Hospital Escuela de Paysandú. CHPR. Depto. Laboratorios Salud Pública.

Trabajo inédito.

Declaramos no tener conflictos de intereses.

Fecha recibido: 21 noviembre 2017.

Fecha aprobado: 6 agosto 2018.

<http://dx.doi.org/10.31134/AP.89.4.2>

Summary

Pneumococcal conjugate vaccines (PCV) are effective against children's severe infections and they also constrain nasopharyngeal colonization due to the serotypes in their formulas. There are no recent publications in Uruguay regarding serotypes hosted in the children's nasopharyngeal reservoir, either from before or after the introduction of the PCV. With the purpose of characterizing nasopharyngeal colonization of children under 2 years of age and describing the S. pneumoniae serotypes before and after the pneumococcal conjugate vaccines in the Uruguayan National Vaccination Report, we carried out a descriptive retrospective study including three periods: 2002- 2003 and 2014-2015 in Paysandú, and 2012-2013 in Montevideo. S. pneumoniae was isolated in local laboratories and the "quellung" serotyping was carried out in the Laboratories of the Public Health Department. We processed 831 samples and recovered 54.8% pneumococci (n=456), of which 223 were typed. Prior to the vaccination, the study showed invasive serotype carriage, mainly of the 6A, 6B, 14 and 19F serotypes, all included in the 13-valent vaccine. At the HIV clinic, colonization from invasive pneumococci was much lower and the post vaccination study showed the almost complete disappearance of the invasive strains (6/93), mainly of the less common serotypes, which called the attention towards the increase of vigilance towards the monitoring of children colonization dynamics.

Key words:

*Streptococcus pneumoniae
Pneumococcal vaccine
Herd immunity*

Resumo

As Vacinas Pneumocócicas Conjugadas (VPC) são eficazes contra infecções graves em crianças e também restringem a colonização nasofaríngea, devido aos sorotipos utilizados em suas fórmulas. Não há publicações recentes no Uruguai relativas aos sorotipos que incluem reservatório nasofaríngeos nas crianças, nem de antes ou depois das vacinas VPN. Com o objetivo de caracterizar a colonização nasofaríngea de crianças menores de 2 anos de idade e descrevendo os sorotipos S. pneumoniae antes e depois das vacinas antipneumocócicas conjugadas no Relatório Nacional de Vacinação do Uruguai, realizou-se um estudo retrospectivo descritivo, incluindo três períodos: 2002- 2003 e 2014-2015 em Paysandú e 2012-2013 em Montevideo. S. pneumoniae foi isolada em laboratórios locais e a sorotipificação "quellung" foi realizada nos Laboratórios do Departamento de Saúde Pública. Foram processadas 831 amostras e recuperado 54,8% de pneumococo (n = 456), dos quais 223 foram tipificados. Antes da vacinação, o estudo mostrou transporte de sorotipos invasores, principalmente dos sorotipos 6A, 6B, 14, 19F, todos incluídos na vacina 13-valente. Na clínica de HIV, a colonização invasiva de pneumococos foi muito menor, e o estudo pós-vacinação mostrou o desaparecimento quase total das cepas invasivas (6/93), principalmente dos sorotipos menos comuns, o que sugere a necessidade de aumentar a vigilância no monitoramento da dinâmica de colonização de crianças.

Palavras chave:

*Streptococcus pneumoniae
Vacina pneumocócica
Imunidade coletiva*

Introducción

La entrada de las vacunas conjugadas neumocócicas (VCN) en el calendario vacunal de Uruguay (7 valente en 2008 y 13 valente en 2010) determinó cambios en la epidemiología de las infecciones por *Streptococcus pneumoniae*, con reducción de la mortalidad y la morbilidad en niños menores de 5 años de edad. La especie *Streptococcus pneumoniae* agrupa más de 90 serotipos capsulares, con polisacáridos inmunológicamente distintos, pero un número relativamente reducido causa infecciones invasoras⁽¹⁾. Las VCN son efectivas para prevenir infecciones severas causadas por los serotipos que integran sus fórmulas y además limitan la colonización por esos serotipos y en consecuencia reducen su transmisión y diseminación en la comunidad⁽²⁾.

La nasofaringe del ser humano es el reservorio de *S. pneumoniae*. Sus diferentes serotipos son integrantes habituales de la flora de ese sector, que es colonizado en porcentajes variables en diferentes etapas de la vida. Generalmente la portación es asintomática, pero algunos serotipos pueden causar infecciones invasoras⁽³⁾. Otros agentes cohabitan la nasofaringe en un equilibrio en el que influyen factores geográficos, climáticos, socio-culturales y patogénicos⁽⁴⁻⁶⁾. Este reservorio nasofaríngeo es fuente de diseminación de diferentes serotipos en la comunidad, proceso que es favorecido por las secreciones de las infecciones respiratorias agudas⁽⁷⁾. Virus y bacterias, que coexisten en la nasofaringe, se potencian mutuamente. La adherencia de los neumococos a la mucosa respiratoria es incrementada por las neuraminidasas virales, en tanto que las enzimas bacterianas clivan las hemaglutininas virales aumentando la replicación de algunos virus⁽⁸⁻¹¹⁾.

Publicaciones internacionales sobre portación nasofaríngea, pre y posempleo de las vacunas conjugadas, proporcionan información sobre la circulación de los serotipos incluidos en las VCN y la potencial aparición de otros serotipos en reemplazo de los controlados por la vacunación^(12,13). En Uruguay, no se dispone de datos recientes de portación nasofaríngea en niños, ni antes de la introducción de la VCN 7-valente (serotipos: 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F y 23F) en el año 2008, ni luego de la incorporación, en el 2010, de la VCN 13-valente (con serotipos adicionales: 1, 3, 5, 6A, 7F y 19A). La vigilancia de los neumococos que colonizan la nasofaringe de niños permite reconocer cambios en la frecuencia de serotipos, la persistencia de algunos o la sustitución por otros, así como medir el impacto de las VCN⁽¹⁴⁾.

El objetivo de este trabajo es caracterizar la colonización nasofaríngea de niños menores de 2 años y describir los serotipos de *S. pneumoniae* identificados antes y después de la introducción de las vacunas conjugadas

antineumocócicas en el certificado esquema de vacunación (CEV) de Uruguay, en tres momentos epidemiológicos diferentes, y en los departamentos de Montevideo y Paysandú.

Método

Se llevó a cabo un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo. Se consideraron tres períodos de tiempo en que se incluyeron los casos de neumococos obtenidos de aspirados/hisopados nasofaríngeos o de hisopados faríngeos mayoritariamente de niños desde recién nacidos a 2 años de edad en 2002-2003 (antes de la introducción de las VCN) y en 2014-2015 en centros de Paysandú, y mayoritariamente en 2012-2013 en Montevideo (ambos períodos posteriores a la introducción de VCN). Se seleccionó una muestra de conveniencia. La fuente de datos fueron los registros de laboratorio y las historias clínicas. Se consideraron variables epidemiológicas, clínicas y microbiológicas.

En el análisis microbiológico, dado que no se disponía en todos los casos de información precisa sobre la técnica empleada para la recolección, se consideró esta variable como “muestra”. En dos de los estudios (estudio I: años 2002/03 y estudio III: años 2014/15) la recolección de muestras se realizó en servicios pediátricos públicos de la capital del departamento de Paysandú. Para la recolección de las muestras se contó con la cooperación voluntaria de médicos y personal de salud. En las policlínicas no se registró el motivo de consulta, ni antecedentes de vacunaciones, pero consta que los niños hospitalizados cursaban infecciones respiratorias agudas.

El estudio II (años 2012/2013) se efectuó en población ambulatoria asistida en la policlínica Materno-Infantil de VIH del Centro Hospitalario Pereira Rossell (CHPR) de Montevideo. Las muestras correspondieron a hijos de madres infectadas con VIH/SIDA, que concurrían a la policlínica para su seguimiento serológico, imprescindible para confirmar o descartar la transmisión vertical de la infección. En este estudio se recabó la información en un formulario con datos filiatorios y antecedentes de cada niño. La recolección de muestras y los cultivos bacteriológicos, sembrados en cuadrantes, siguieron las pautas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) vigentes en ese momento⁽¹⁵⁾.

El aislamiento e identificación de *S. pneumoniae* se realizó, respectivamente, en los laboratorios de bacteriología del Hospital Escuela del Litoral (Paysandú) y en el CHPR. En todos los estudios la confirmación de los neumococos y la serotipificación se llevó a cabo en el Departamento de Laboratorios de Salud Pública (DLSP). En la serotipificación se empleó

Tabla 1. Colonización nasofaríngea en niños pre-VCN y pos-VCN: serotipos identificados en cada período.

	Pre-VCN		Post-VCN		Total Post VCN
	2002/2003*	2012/2013**	2014/2015***	N= 475	
	N=356	N= 101	N= 374		
Serotipos VCN	1	0	0	0	0
	3	4	0	1	1
	4	3	0	0	0
	5	0	0	0	0
	6A	12	2	0	2
	6B	7	0	0	0
	7F	1	1	0	1
	9V	4	0	1	1
	14	6	1	2	3
	18C	4	0	0	0
	19F	10	0	2	0
	19A	4	0	0	2
	23F	4	1	0	1
	Total Tipificado	59	5	6	11
Otros serotipos	6D	0	0	1	1
	7B/C	2	0	3	3
	8	0	0	2	2
	9N	1	0	3	3
	10A	3	0	1	1
	10F	0	0	1	1
	11A	0	2	6	8
	11^	7	2 (11A)	6 (11A)	8
	12F	0	0	1	1
	13	3	0	1	1
	15^	2	15A(1) 15B(2)	15A(5) 15B(4) 15C(3)	15
	16F	0	0	4	4
	17A	0	0	1	1
	17F	0	2	5	7
	18F	1	0	0	0
	18A	1	0	0	0
	19C	0	0	4	4
	19B/C	0	0	2	2
	20	2	0	0	0
	21/39	0	0	3	3
	22F	0	1	6	7
	23A	1	2	6	8
	23B	3	2	8	10
	24F	0	0	2	2
	33^	2	1	0	1
	34	0	0	1	1
	36/37	0	1	2	3
	pool C	1	1	1	2
	pool D	3	0	0	0
	pool E	0	0	1	0
	pool G	8	0	4	4
	pool H	1	0	0	0
	pool I	2	0	4	4
NT****	7	1	2	3	
Total Tipifici	50	16	87	103	
*Estudio I	**Estudio II	***Estudio III	** No tipificable	^ sin subtipo	

la técnica de “quellung”, con una colección de pools y antisueros específicos (Statens Serum Institut, Dinamarca) proporcionada por la Oficina Panamericana de la Salud (OPS). En algunos neumococos no se pudo reconocer el subtipo o el serotipo contenido en un pool por no disponer de antisueros para identificar serotipos poco frecuentes.

Los resultados de la serotipificación fueron respaldados por controles de calidad periódicos de los centros de referencia de Brasil (Instituto Adolfo Lutz) y de Canadá (Centro Nacional de Streptococcus), en el marco del Sistema Regional de Vacunas iniciado en 1993, actualmente denominado SIREVA II⁽¹⁶⁾.

Los tres estudios contaron con la aprobación ética, respectivamente, de las autoridades locales y de la comisión de la Facultad de Medicina.

El análisis estadístico se realizó en base a medidas de resumen y distribución de frecuencias.

Resultados

Se procesaron en total 831 muestras, con una proporción de recuperación de neumococos de 54,8% (n = 456); 223 de ellos fueron tipificados.

En el estudio I se obtuvieron 356 muestras, de las cuales se recuperaron 177 neumococos (49,7%), tipificándose 109 cepas en las que se identificaron 28 serotipos diferentes con 54,1% de serotipos vacunales. En el estudio II se obtuvieron 101 muestras en las que se aislaron 35 neumococos (34,6%) de los cuales 21 fueron tipificados, presentando 14 serotipos diferentes, con 23% de serotipos vacunales. En el estudio III, de 374 muestras, se identificaron 244 *S. pneumoniae* (65,2%), con 93 cepas tipificadas, 32 serotipos distintos y 6,4% de serotipos vacunales.

En la tabla 1 se listan los serotipos identificados en los diferentes grupos de niños incluidos en los tres estudios.

A pesar de las limitaciones metodológicas que interfieren con la comparación entre los estudios, la observación de los serotipos presentes en cada investigación proporciona diferentes evidencias. Datos prevacunación (estudio I) mostraron portación de serotipos invasores incluidos en las fórmulas de las VCN, con predominio de 6A, 6B, 14, 19F, pero en ninguno de los estudios se detectó portación del serotipo 5 ni del serotipo 1, ambos de reconocida capacidad invasora. Los resultados de los dos estudios posteriores a la vacunación muestran diferencias en las frecuencias de los serotipos vacunales. En el estudio II hay disminución de la frecuencia de esos serotipos, en tanto que en el estudio III se aprecia una casi desaparición de serotipos previamente predominantes, todos integrantes de la fórmula de la VCN 13. Los datos del estudio III confirman (6/93) que únicamente persisten los neumococos vacunales de los serotipos 14 (2), 19F (2), 3 (1) y 9V⁽¹⁾.

En la tabla 2 se muestran los neumococos que colonizan precozmente a lactantes, desde recién nacidos a 3 meses de edad, en ocasión de los dos estudios posvacunación. En el conjunto de ambos estudios se identificaron cinco cepas vacunales en un total de 26 neumococos tipificados.

Discusión

Los estudios de colonización nasofaríngea en niños permiten evaluar otro de los efectos preventivos de la vacunación con VCN, que controla los neumococos invasores en el reservorio nasofaríngeo, evitando su diseminación en la comunidad. Esos estudios informan además sobre cambios en la frecuencia de serotipos vacunales y la posible aparición o predominio de otros serotipos

Tabla 2. Serotipos de colonización en lactantes de 0 a 3 meses de edad en la era de la VCN.

Período	Edad (meses)	n aislamientos		S pn serotificados
		(+)	(-)	n = 26
2012/2013	0	(3)	(0)	6A, poolC, 22F
	2	(4)	(0)	6A, 22F, 23F, 23A
	3	(0)	(0)	—
2014/2015	0	(12)	(15)	9V, 11 A (2), 15 C (2), 22 F, 23 B, 7 B/C
	2	(10)	(11)	3, 8, 11A, 18C, 22F, 23B
	3	(10)	(5)	15B, 17F, 23B, 24F, poolE

poco habituales. Proporcionan también información complementaria de los estudios etiológicos, que se caracterizan por su tradicional baja sensibilidad.

A pesar de la abundante bibliografía internacional referente al tema, no se localizaron publicaciones nacionales recientes, lo que valoriza la información que se presenta. Son resultados que corresponden a tres estudios independientes que permiten documentar la portación de serotipos en la nasofaringe de niños antes y luego de la aplicación de la VCN.

En el estudio I, previo a la introducción de la VCN (2002/2003), se comprobó en la nasofaringe de los niños un importante predominio de serotipos vacunales, como habían sido identificados en investigaciones de los años 1986/1987 y 1993/1995^(17,18). También fue posible observar cambios en la presencia de las cepas vacunales (2012/2013 y 2014/2015), luego de la incorporación de las VCN al certificado esquema de vacunación. Existió una relativa persistencia de serotipos vacunales en el estudio II, lo que es explicable por una baja cobertura de la VCN debida a la edad de los niños o a su situación serológica que contraindica temporalmente la vacunación. En el estudio III el impacto atribuible a la VCN 13 lo evidenciaría la casi desaparición de los serotipos vacunales (6/93) previamente dominantes. En consecuencia, una menor circulación de los serotipos más patógenos prevendrá neumococcias severas como reiteradamente lo demostraron publicaciones nacionales sobre el impacto de la VCN⁽¹⁹⁻²²⁾. Corresponde señalar, además, que la vacunación, con el tiempo, al reducir la circulación de los serotipos más invasores va creando en la población no vacunada una protección indirecta o inmunidad de rebaño⁽²³⁾. No obstante, paulatinamente nuevos serotipos fueron ocupando el nicho ecológico abandonado por los serotipos vacunales, tal como se aprecia en el estudio III (2014/2015), pues casi la mitad de esos serotipos colonizaban la nasofaringe de los niños. Si bien son serotipos poco habituales en niños portadores, muchos de sus

polisacáridos capsulares están representados en la vacuna 23-valente. Esta observación sustentaría la recomendación de vacunar con la VCN, complementada luego por la polisacáridica 23-valente a escolares y adolescentes con factores de riesgo⁽²⁴⁾. De todos modos, la presencia de los serotipos 11A y 23B, poco habituales en las poblaciones infantiles, debe tenerse en cuenta y justifica la importancia de una estrecha vigilancia y seguimiento de su comportamiento futuro.

Se analizó también la colonización precoz de la nasofaringe de lactantes pequeños. Los primeros estudios realizados en países desarrollados demostraron que la colonización nasofaríngea ocurría luego de los 6 meses de edad, pero una investigación en niños de Nueva Guinea mostró colonización en los primeros días de vida⁽²⁵⁾. En Uruguay reiteradamente se comprobó colonización temprana, presumiblemente por neumococos albergados por las madres⁽¹⁸⁾. La prevención de la colonización precoz, mediante inmunización materna con vacunas conjugadas y polisacáridicas, podría reducir o prevenir en los lactantes tiernos el riesgo que conlleva la portación de cepas invasoras y beneficiarse, además, de la transmisión de anticuerpos específicos en la leche materna⁽²⁶⁻²⁸⁾. No obstante, la tabla 2 indica que los lactantes estudiados son también colonizados por serotipos no incluidos en ninguna de las vacunas disponibles.

Aun admitiendo las limitaciones metodológicas, la presentación de los resultados de los tres estudios proporciona información sobre aspectos epidemiológicos de una realidad inédita en el país. El registro de datos procedentes de períodos previos y posteriores a la introducción de las VCN en Uruguay permite destacar la efectividad de la vacuna para controlar la colonización nasofaríngea de niños en tiempos y grupos poblacionales diferentes.

Los resultados descritos proporcionaron datos sobre la presencia y cambios en la distribución de los serotipos

en la nasofaringe de niños en distintas oportunidades. También documentaron la repercusión de la vacunación sobre el reservorio de *S. pneumoniae* durante los primeros años de su aplicación. La identificación de niños portadores de serotipos poco habituales es un llamado de atención que plantea el imperativo de instrumentar una vigilancia que monitorice la dinámica de la colonización en los niños a medida que pasan los años y aumentan las generaciones infantiles vacunadas con la VCN. En consecuencia, cabe señalar que esta información retrospectiva con resultados inéditos de tres períodos distintos, a pesar de las limitaciones metodológicas, confirma el impacto de la VCN y el reemplazo en el nicho ecológico nasofaríngeo por otros serotipos.

Agradecimientos

A la Mag. Mariana López-Vega por su colaboración en la tipificación, a Marta y a todo el personal de salud de Paysandú que colaboraron en la recolección de muestras.

Referencias bibliográficas

1. **Bogaert D, De Groot R, Hermans P.** Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis* 2004; 4(3):144-54.
2. **García C.** Estado de portador de neumococo en niños y su relación con la enfermedad invasiva: ¿Qué ha cambiado tras la introducción de la vacuna conjugada? *Rev Pediatr Aten Primaria* 2010; 12(47):457-82.
3. **Johnson H, Deloria M, Levine O, Stoszek S, Freimanis L, Reithinger R, et al.** Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project. *PLoS Med* 2010; 7(10):e1000348.
4. **Jourdain S, Smeesters P, Denis O, Dramaix M, Sputael V, Malaviolle X, et al.** Differences in nasopharyngeal bacterial carriage in preschool children from different socio-economic origins. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17(6):907-14.
5. **Bakhshae M, Naderi H, Ghazvini K, Sotoudeh K, Amali A, Ashtiani S.** Passive smoking and nasopharyngeal colonization by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis* in daycare children. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269(4):1127-32.
6. **Ries M, Kostiaë M, Zadrevac D, Drvis P, Ajduk J, Trotiaë R.** Nasopharyngeal bacterial flora in healthy preschool children during winter-spring months. *Coll Antropol* 2013; 37(2):415-22.
7. **Ercibengoa M, Arostegi N, Marimón J, Alonso M, Pérez E.** Dynamics of pneumococcal nasopharyngeal carriage in healthy children attending a day care center in northern Spain. Influence of detection techniques on the results. *BMC Infect Dis* 2012; 12:69.
8. **Skevakis C, Tsiailta P, Trochoutsou A, Logotheti I, Makri-noti H, Taka S, et al.** Associations between viral and bacterial potential pathogens in the nasopharynx of children with and without respiratory symptoms. *Pediatr Infect Dis J* 2015; 34(12):1296-301.
9. **McCullers J, Bartmess K.** Role of neuraminidase in lethal synergism between influenza virus and *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 2003; 187(6):1000-9.
10. **Petraitiene S, Alasevicius T, Staceviciene I, Vaiciuniene D, Kacergius T, Usonis V.** The influence of streptococcus pneumoniae nasopharyngeal colonization on the clinical outcome of the respiratory tract infections in preschool children. *BMC Infect Dis* 2015; 15:403.
11. **Esposito S, Zampiero A, Terranova L, Ierardi V, Ascolese B, Daleno C, et al.** Pneumococcal bacterial load colonization as a marker of mixed infection in children with alveolar community-acquired pneumonia and respiratory syncytial virus or rhinovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32(11):1199-204.
12. **Ricketson L, Wood M, Vanderkooi O, MacDonald J, Martin I, Demczuk W, et al.** Trends in asymptomatic nasopharyngeal colonization with streptococcus pneumoniae after introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in Calgary, Canada. *Pediatr Infect Dis J* 2014; 33(7):724-30.
13. **Hausdorff W, Feikin D, Klugman K.** Epidemiological differences among pneumococcal serotypes. *Lancet Infect Dis* 2005; 5(2):83-93.
14. **Espinosa L, Aguilar F, Jiménez R, Rodríguez R, Gómez D.** Reemplazo de serotipos de *Streptococcus pneumoniae* en niños con vacuna conjugada antineumocócica 7V en México. *Salud Publ Mex* 2010; 52(1):4-13.
15. **O'Brien K, Nohynek H.** Report from a WHO Working Group: standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22(2):e1-11.
16. **Lovgren M, Talbot J, Brandileone M, Casagrande S, Agudelo C, Catañeda E, et al.** Evolution of an International External Quality Assurance Model to support Laboratory Investigation of *Streptococcus pneumoniae*, developed for the SIREVA project in Latin America from 1993-2005. *J Clin Microbiol* 2007; 45(10):3184-90.
17. **Mogdasy M, Camou T, Fajardo C, Hortal M.** Colonizing and invasive strains of *Streptococcus pneumoniae* in Uruguayan children: type distribution and patterns of antibiotic resistance. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11(8):648-52.
18. **Palacio R, Camou T, Russi J, Hortal M, Picon T, Nin M, Quian J.** Frequency, type and associated diseases of bacteria and virus in the oropharynx of children born to human immunodeficiency virus-infected mothers. *Braz J Infect Dis* 1998; 2(3):128-134.
19. **Pírez M, Algorta G, Cedrés A, Sobrero H, Varela A, Giachetto G, et al.** Impact of universal pneumococcal vaccination on hospitalizations for pneumonia and meningitis in children in Montevideo, Uruguay. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30(8):669-74.
20. **Hortal M, Estevan M, Meny M, Iraola I, Laurani H.** Impact of pneumococcal conjugate vaccines on the incidence of pneumonia in hospitalized children after five years of its introduction in Uruguay. *PLoS One* 2014; 9(6):e98567.
21. **Picón T, Alonso L, García G, Speranza N, Casas M, Arrieta F, et al.** Effectiveness of the 7-valent pneumococcal

- conjugate vaccine against vaccine-type invasive disease among children in Uruguay: an evaluation using existing data. *Vaccine* 2013; 31(Suppl 3):C109-13.
22. **García G, López M, Pérez G, Hernández S, Cardinal P, Félix V, et al.** Effect of pneumococcal conjugate vaccination in Uruguay, a middle-income country. *PLoS One* 2014; 9(11):e112337.
 23. **Loughlin A, Hsu K, Silverio A, Marchant C, Pelton S.** Direct and indirect effects of PCV13 on nasopharyngeal carriage of PCV13 unique pneumococcal serotypes in Massachusetts' children. *Pediatr Infect Dis J* 2014; 33(5):504-10.
 24. **Gratten M, Montgomery J, Gerega G, Gratten H, Siwi H, Poli A, et al.** Multiple colonization of the upper respiratory tract of Papua New Guinea children with *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1989; 20(4):501-9.
 25. **Nuorti J, Whitney C.** Prevention of pneumococcal disease among infants and children - use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2010; 59(RR-11):1-18
 26. **Finn A, Zhang Q, Seymour L, Fasching C, Pettitt E, Janoff E.** Induction of functional secretory IgA responses in breast milk, by pneumococcal capsular polysaccharides. *J Infect Dis* 2002; 186(10):1422-9.
 27. **Munoz F, Englund J, Cheesman C, Maccato M, Pinell P, Nahm M, et al.** Maternal immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine in the third trimester of gestation. *Vaccine* 2001; 20(5-6):826-37.
 28. **Lopes C, Berezin E, Scheffer D, Huziwara R, Sliva M, Brandão A, et al.** Pneumococcal nasopharyngeal carriage in infants of mothers immunized with 23V non-conjugate pneumococcal polysaccharide vaccine. *J Trop Pediatr* 2012; 58(5):348-52.

Correspondencia: Dra. María Hortal.
Correo electrónico: marujahortal@gmail.com